



Katedra Botaniki i Ochrony Przyrody
Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
10-727 Olsztyn-Kortowo, Plac Łódzki 1
tel. (89) 523-34-94; fax (89) 523-35-46
e-mail: hold@uwm.edu.pl

Olsztyn, 12 stycznia 2016

Recenzja

pracy doktorskiej **Pana mgr Eugeniusza Pronina** pt.:
**„Skład stabilnych izotopów $\delta^{13}\text{C}$ i $\delta^{18}\text{O}$ w inkrustacjach węglanowych ramienic (*Characeae*)
jako wskaźnik środowiska jeziornego”,**
wykonanej w Zakładzie Hydrobiologii, Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza,
pod kierunkiem dr hab. prof. UAM Mariusza Pełechatego oraz dr Kariny Apolinarskiej,
promotorów

Podstawa formalna i przedmiot recenzji

Recenzja została wykonana w odpowiedzi na pismo (L.dz. WB-92-15/16, z dnia 13.11.2015), skierowana przez dziekana Wydziału Biologii, Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu Pana prof. dr hab. Bogdana Jackowiaka.

Ocena formalna rozprawy

Oceny rozprawy doktorskiej mgr Eugeniusza Pronina dokonano na podstawie dokumentacji, którą stanowi manuskrypt. Recenzowana rozprawa obejmuje 113 stron druku komputerowego wraz z 12 stronicowym spisem literatury. Tekst został podzielony na 10 numerowanych rozdziałów obejmujących: przegląd literatury, cel pracy, opis terenu badań, materiał i metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie i wnioski, streszczenie pracy (w języku polskim i angielskim) oraz bibliografię.

Praca została napisana poprawnym językiem. Układ tekstu, wykonanie tabel oraz rycin jest w większości staranne i stanowią one bardzo wartościowe uzupełnienie tekstu. Spis treści jest szczegółowy ale przejrzysty.

Wykaz cytowanej literatury obejmuje 124 pozycje, w tym 91 (78 %) w języku angielskim, a reszta w języku polskim, 59 % analizowanej literatury została wydana po 2000 roku, przy czym dyskusję przeprowadzono w większości w oparciu o najnowsze prace opublikowane po 2010 roku, co świadczy o aktualności podjętych problemów i wnikliwej analizie literatury z zakresu tematyki związanej z prowadzonymi badaniami.

Ocena merytoryczna pracy

Autor podjął istotny, z punktu widzenia funkcjonowania i ochrony środowiska wodnego obecnie i w przeszłości (paleobiologii, paleolimnologii) – temat badawczy. Dobrze rozpoznał problem, właściwie zaplanował i przeprowadził badania. Na dwóch wybranych gatunkach ramienic *Chara tomentosa* i *Ch. globularis* (które tworzyły zwarte powierzchnie – zbiorowiska) pochodzących z 7 jezior Pojezierza Lubuskiego (różniących się morfometrią i stanem jakości wód) przetestowano główne założenie, cel pracy „Stwierdzenie czy istnieją różnice pomiędzy składem stabilnych izotopów ($\delta^{13}\text{C}$ i $\delta^{18}\text{O}$) w wytrączonych przez ramienice węglanach a środowiskiem”. Środowiskiem rozumianym jako woda znad zbiorowisk i woda pelagiczna. Prawidłowo sformułowane zagadnienia szczegółowe związane z celem głównym zostały konsekwentnie rozwinięte i przedyskutowane w poszczególnych rozdziałach pracy.

We wstępie autor nakreślił postępujący rozwój badań środowiskowych wykorzystujących analizy składu stabilnych izotopów określonych pierwiastków chemicznych, włączając w to również badania ekologiczne w słodkowodnych ekosystemach wodnych. Podkreślił potrzebę ciągle aktualnych tego typu badań wynikających z nie rozwiązanych wielu problemów ekologicznych (zarówno współczesnych, jak i paleoekologicznych) oraz ich wartości aplikacyjnych.

Autor podkreślił przede wszystkim znaczenie swoich badań zgodnych z zasadą aktualizmu geologicznego, która przyjmuje, że zjawiska obserwowane w teraźniejszości są kluczem do zrozumienia zjawisk zachodzących w przeszłości (znaczenie dla pleoekologii). Chciałabym podkreślić jeszcze inne znaczenie tego typu badań, których autor nie podaje. Pogłębienie wiedzy na temat funkcjonowania ekosystemów wodnych i ich rozpoznawania w przeszłości, a szczególnie zbiorników ramienicowych (jezior z rozległymi łąkami charofitów) ma ogromne znaczenie w obecnie konstruowanych i rozwijanych metodach oceny stanu ekologicznego ekosystemów wodnych zgodnie z założeniami tzw. Ramowej Dyrektywy Wodnej Unii Europejskiej (2000), którą również Polska przyjęła w 2002 roku. Problem polega na konieczności ustalania dla każdego elementu biologicznego (w tym makrofitów) tzw. warunków referencyjnych, odmiennych w różnych krajach ze względu na różne warunki przyrodnicze. W Europie środkowej (w tym w Polsce, w Niemczech, na Litwie i inne) dla jezior twardowodnych (ponad 90% jezior w Polsce) ustalono, że takie wzorcowe warunki występują w jeziorach ramienicowych. W niektórych krajach ze względu na brak takich ekosystemów obecnie, poszukuje się ich w przeszłości – badania paleolimnologiczne. Oceniana praca wpisuje się zatem zarówno w harmonogram (do 2027), jak i w problematykę obecnie rozwijanych problemów związanych z wdrażaniem RDW, której głównym celem jest poprawa i osiągnięcie do 2027 co najmniej dobrego stanu ekologicznego wód powierzchniowych w całej Europie (Directive 2000).

We wstępie autor przedstawił również rolę ramienic w funkcjonowaniu ekosystemów jeziornych i sedymentacji CaCO_3 , mechanizmy precypitacji (osadzania się) inkrustacji węglanowych oraz stanu badań składu stabilnych izotopów C i O w inkrustacjach ramienic.

W rozdziałach teren badań i metody badań Doktorant wyczerpująco przedstawił miejsca badań – 7 jezior, w 3 występowały zbiorowiska obydwu ramienic, w pozostałych 4 – w 2 zbiornikach rozwijały się fitocenozy z *Chara tomentosa* i w 2 z *Ch. globularis*. W każdym jeziorze pobierano po 10 plech ramienic, na 3 stanowiskach wielkości 4x4m, w których wykonano również badania fitosocjologiczne (pod wodą, przy użyciu skafandrów i sprzętu płetwonurka).

Dobrze zaplanowano również pobór wody do analiz fizyczno-chemicznych (znad fitocenoz ramienic oraz kontrolnie wody śródzieziornej) i rodzaj analizowanych parametrów wody. Część parametrów mierzono bezpośrednio w wodzie (5): temperaturę, stężenie tlenu, przewodnictwo elektrolityczne i pH oraz z powierzchni widzialność. Pozostałe parametry wody zostały zmierzone w laboratorium (16): zasadowość, dwuwęglany, twardość, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , Si, różne formy azotu i TN, fosforany i TP, oraz $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$.

Podano dokładne procedury pozwalające przygotować materiał roślinny z inkrustacjami i bez do analiz składu stabilnych izotopów węgla. Analizy pomiarowe tych izotopów na ramienicach i w wodzie zostały wykonane w Laboratorium Datowania i Badań Środowiskowych PAN w Warszawie; natomiast w materii organicznej ramienic izotopy te identyfikowano w Instytucie Nauk o ziemi, Uniwersytetu Goethego we Frankfurcie nad Menem w Niemczech (rozumiem, że tlen również?) oraz analizy hydrochemiczne wód w Zakładzie Analizy Wód i Gruntów (UAM w Poznaniu). W celu zapewnienia jak najlepszej precyzji wyników, mierzone były w tych laboratoriach dla węgla cztery międzynarodowe standardy dla każdej serii próbek izotopowych oraz trzy międzynarodowe standardy w przypadku analiz tlenu.

Na podkreślenie zasługuje umiejętność doktoranta do nawiązywania współpracy, z jednostkami badawczymi w kraju oraz z zagranicy.

Bardzo starannie zostały dobrane i wykonane z zasadami zachowania wszystkich procedur również analizy statystyczne.

Wyniki zaprezentowano w bardzo obszernym rozdziale liczącym osiem podrozdziałów i jeszcze cztery następnego rzędu (łącznie 53 strony).

Do głównych tez pracy należało wykazanie:

- Braku różnic składu stabilnych izotopów między wartościami $\delta^{18}\text{O}$ węglanów i wód (z otoczenia i śródzieziora) dla obu gatunków ramienic oraz pomiędzy nimi;
- Istotnych różnic wartości $\delta^{13}\text{C}$ węglanowych (z inkrustacji) pomiędzy badanymi gatunkami. W przypadku *Chara tomentosa* odnotowano większe wartości $\delta^{13}\text{C}$ w stosunku do jego zawartości w wodzie z otoczenia (DIC), natomiast w przypadku *Ch. globularis* zaobserwowano tendencje odwrotną we wszystkich jeziorach i na wszystkich stanowiskach;
- Podobnie istotne różnice w składzie $\delta^{13}\text{C}$ w materii organicznej do zawartości w wodzie, gdzie również w plechach *Ch. tomentosa* stwierdzono większe wartości węgla niż w drugiej ramienicy.

Zaskakujące wyniki tak dużych różnic w składzie $\delta^{13}\text{C}$ zarówno w inkrustacji, jak i materii *Ch. tomentosa* w stosunku do drugiej ramienicy zostały bardzo szeroko skonfrontowane z literaturą w rozdziale dyskusja. Autor zakłada, że o ile wyniki uzyskane dla *Ch. tomentosa* są zbliżone do wcześniej otrzymanych dla *Ch. rudis* (badania Pełechaty i inni) – podobnej ramienicy co do morfologii, natomiast *Ch. globularis* pod tym względem różni się zasadniczo, ma też bliższy kontakt z osadami (a zatem z zasilaniem w ^{12}C z rozkładającej się materii organicznej) - mogą te fakty wpływać na niższe wartości $\delta^{13}\text{C}$ węglanów i materii organicznej stwierdzonej w tej ostatniej ramienicy.

Dyskusja wskazuje na bardzo dobrą znajomość literatury przedmiotu przez doktoranta, nie tylko co do charakterystyki występowania ramienic, budowy ich plech czy struktury socjalnej

w jeziorach, ale również funkcjonowania i fizjologii, ekologicznych zależności pomiędzy biotycznymi (również roślin naczyniowych) i abiotycznymi elementami ekosystemu jeziornego.

Udowodnione różnice w wartościach składu stabilnych izotopów $\delta^{13}\text{C}$ w węglanach, materii organicznej i wodzie – dwóch badanych gatunków ramienic może przyczynić się do lepszej interpretacji składu stabilnych izotopów węgla w zdeponowanych osadach pochodzenia ramienicowego w badaniach paleolimnologicznych czy paleoekologicznych.

Uwagi końcowe

Chciałabym aby doktorant ustosunkował się do kilku moich uwag i wątpliwości lub rozwinął pewne zagadnienia:

- Na czym polega mechanizm powstawania odmiennych wartości $\delta^{13}\text{C}$ dla ramienic i roślin naczyniowych?
- Czy z danych literaturowych wiadomo, jaki % fitolitoralu zajmowały łąki ramienicowe w badanych jeziorach?
- Jaką część materiału badawczego (z 10 plech na każdym stanowisku) wykorzystano do analiz zawartości stabilnych izotopów $\delta^{13}\text{C}$ i $\delta^{18}\text{O}$ w inkrustacji węglanowej, a jaką część do analiz tych izotopów w materii organicznej? – brak tej informacji w metodach.
- W rozdziale materiał i metody podano jakim zabiegom poddawano próby aby określić zawartości stabilnych izotopów $\delta^{13}\text{C}$ i $\delta^{18}\text{O}$ w materii organicznej (tj. tylko w samych plechach ramienic), natomiast zawartości tych samych izotopów w inkrustacjach badano razem z plechami. Zatem wyniki tych ostatnich pomiarów dotyczą wyłącznie inkrustacji czy nie?
- Czy stanowiska kontrolne, śródzieziorne, bez roślinności w których na głębokości 0,5 m pobierano wodę do analiz fizyczno-chemicznych znajdowały się w tzw. głębozczkach analizowanych jezior?
- Po wykonaniu analiz i ich opracowaniu, jakie jest Pana zdanie na temat problemu wykonywania jednorazowych badań, ponieważ główny cel pracy został sformułowany następująco - „W przypadku jednokrotnego poboru prób, możliwe jest jednak stwierdzenie czy istnieją różnice pomiędzy składem stabilnych izotopów w wytrącanych przez ramienice węglanach a środowiskiem”. Jednorazowy pobór prób, w przypadku makrofitów jest uzasadniony, natomiast próby środowiskowe są problematyczne!
- Jakie wartości współczynników pokrycia z tabeli 8 (str. 44) były podstawą do sporządzenia sześciu rycin 7-12, w których je analizowano, ponieważ niektóre z nich zostały wyliczone błędnie. Np. *Chara variegata* (zespół *Ch. tomentosae*) – skąd tak duże wartości, gdy w tab. 6 (wyjściowej ze zdjęciami fitosocjologicznymi) częściej i z większym pokryciem występuje *Ch. globularis*, a jest odwrotnie co do wartości współczynnika pokrycia; podobnie w następnym zespole, najczęściej występuje (poza oczywiście gatunkiem dominującym) *Nitella flexilis*, a ma mniejsze pokrycie niż *Ch. variegata*. W takiej sytuacji co również z interpretacją wyników w trzech podrozdziałach: 4.3, 4.8 oraz 6.7.
- Rozumiem, że w przypadku omawiania analiz statystycznych RDA przedstawionych na poszczególnych rycinach – wyniki dotyczyły testu statystycznego Monte Carlo?

- Praca została napisana poprawnym językiem, ale stosowanie niektórych określeń, np. przy wynikach analiz statystycznych budzi moje wątpliwości - zamiast pozytywne i negatywne zależności, korelacje czy wartości określonych parametrów może lepiej stosować dodatnie i ujemne zależności czy wartości (bez ich wartościowania, bo wszystkie są właściwe, dobre).

Różnego rodzaju uwagi dotyczące redagowania tekstu: uporządkowania tabel i rycin, braku cytowania niektórych tabel, zamieszczanie tabel czasem nawet kilkanaście stron dalej itd. - zostały przesłane autorowi

Moje uwagi nie umniejszają w niczym wartości naukowej, merytorycznej strony przedstawionej pracy doktorskiej, są raczej wyrazem pozbycia się wątpliwości. Wyniki zamieszczone w dysertacji uważam za znaczące osiągnięcia naukowe, które wpisują się w odkrywanie jeszcze nie znanych zakresów funkcjonowania ramienic w ekosystemach jeziornych i mają duże znaczenie aplikacyjne.

Ocena kwalifikacyjna i wniosek końcowy

Przy opracowaniu swojej pracę doktorskiej Pan mgr Eugeniusz Pronin wykazał się dużą wiedzą z zakresu hydrobiologii, ekologii roślin wodnych (nie tylko ramienic) oraz bioinformatyki. Dużą część czasu swojej pracy poświęcił pracochłonnym pracom terenowym i analizom laboratoryjnym. Praca oprócz niezaprzeczalnego wkładu w rozwój wiedzy z zakresu hydrobotaniki, głównie autekologii wybranych gatunków ramienic (znaczenie naukowe) ma również ogromne znaczenie użytkowe.

Stwierdzam dlatego, że oceniana praca spełnia wszystkie ustawowe wymagania merytoryczne i formalne stawiane rozprawom doktorskim. Stawiam wniosek do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu im Adama Mickiewicza w Poznaniu, o dopuszczenie Pana mgr Eugeniusza Pronina do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Hanna Ciecierska, prof. UWM

