



**WYDZIAŁ BIOLOGII
I OCHRONY
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

Łódź, dnia 20.04.2018 r.

Dr hab. Adrianna Wojtal-Frankiewicz, prof. nadzw. UŁ
Katedra Ekologii Stosowanej
Wydział BiOŚ UŁ

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Łukasza Wejnerowskiego
pt. „The significance of cyanobacterial filament morphology in a defence
against grazing by *Daphnia* spp.”**

Sinice pod wieloma względami negatywnie oddziałują na zooplankton. Budowa morfologiczna wielu gatunków sinic utrudnia lub uniemożliwia ich konsumpcję przez roślinożerny zooplankton. Kształt komórek oraz rozmiar kolonii i filamentów sinic w sposób mechaniczny zakłóca proces filtracji zooplanktonu, szczególnie dużych wioślarek z rodzaju *Daphnia*. Ograniczanie tempa filtracji, wzrostu i reprodukcji dużych gatunków wioślarek przez sinice prowadzi do przebudowy struktury gatunkowej zespołów zooplanktonu w kierunku przewagi konkurencyjnej małych form. Badania terenowe dowodzą, że zjawisko to ogranicza biologiczną zdolność samooczyszczania wód i może pogłębiać proces ich degradacji. Jednak szersze poznanie mechanizmów adaptacyjnych u obu grup organizmów oraz precyzyjne określenie zależności przyczynowo - skutkowych wymaga doświadczalnej weryfikacji. Badania podjęte przez pana mgr Łukasza Wejnerowskiego w ramach pracy doktorskiej, dotyczące wpływu *Daphnia* spp. na szerokość nitek sinic jako mechanizmu zwiększającego ich odporność na wyjadanie, są znakomitą przykładem takiej eksperymentalnej analizy.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Hydrobiologii, Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, pod kierunkiem dra hab. Sławomira Cerbina. Ma ona formę pięciu opublikowanych artykułów wraz z omówieniem celu naukowego i uzyskanych wyników, streszczeniem w języku polskim i angielskim, oraz oświadczeniami współautorów o udziale w publikacjach ujętych w rozprawie. Badania realizowane w ramach pracy doktorskiej były finansowane z dwóch źródeł: grantu NCN (UMO-2012/07/N/NZ8/00166) oraz stypendium NCN dla doktorantów (UMO-

Dr hab. Adrianna Wojtal-Frankiewicz, prof. nadzw. UŁ
ul. Banacha 1/3, 90-237 Łódź
e-mail: adrianna.wojtal@uni.lodz.pl

2016/20/T/NZ8/00303). Sumaryczna wartość IF publikacji wchodzących w skład dysertacji wynosi zgodnie z rokiem opublikowania 7,324 oraz 120 punktów MNiSW. Artykuły składające się na rozprawę doktorską stanowią cykl spójnych tematycznie prac doświadczalnych. W pierwszej pracy Doktorant jest drugim autorem, a w kolejnych czterech pierwszym. Zgodnie z oświadczeniami współautorów procentowy udział Doktoranta w poszczególnych pracach jest znaczący lub dominujący i stanowi odpowiednio 40, 65, 50, 70 i 80%. Ponadto z oświadczeń współautorów prac wynika, że pan mgr Łukasz Wejnerowski uczestniczył aktywnie w badaniach na etapie ich planowania, hodowli organizmów, oznaczeń, analiz oraz opisanie wyników w formie publikacji. Świadczy to nie tylko o dużym zaangażowaniu Doktoranta w prowadzone badania na każdym etapie ich realizacji, ale również o godnej uwagi dojrzałości naukowo-badawczej.

We wstępie rozprawy pan mgr Łukasz Wejnerowski w sposób syntetyczny przedstawił opisane dotąd w literaturze rodzaje mechanizmów obronnych związanych ze zmianami w morfologii filamentów sinic. Doktorant zwrócił uwagę na ograniczoną wiedzę na temat znaczenia grubości nici w redukcji presji planktonowych filtratorów. W związku z tym, celem badawczym pracy doktorskiej było wyjaśnienie znaczenia grubości nici dla ich odporności na wyjadanie przez wioślarki z rodzaju *Daphnia*, a w szczególności ocena czy grubsze nici są bardziej odporne na wyjadanie niż cieńsze. Następnie zostały krótko opisane hipotezy badawcze, wyniki i wnioski prac składających się na dysertację.

Pierwsza publikacja (Cerbin S., Wejnerowski Ł., Dziuba M., 2013. *Aphanizomenon gracile* increases in width in the presence of *Daphnia*. A defence mechanism against grazing? *Journal of Limnology* 72: 505-511) miała charakter badań pilotażowych i zakładała, że zaobserwowane zmiany morfologiczne nici *Aphanizomenon gracile* - zwłaszcza zwiększenie ich szerokości - mogą być mechanizmem obronnym indukowanym obecnością *Daphnia magna*. W warunkach kontrolowanych przeprowadzono dwa eksperymenty: w pierwszym badano bezpośredni wpływ *D. magna* na szerokość nici sinic, zaś w drugim badano wpływ na morfologię *A. gracile* substancji sygnałowych pochodzących od wioślarek. Co ciekawe, włókna sinicy stały się znacznie krótsze i grubsze w obu eksperymentach, jednak przy bezpośredniej obecności *D. magna* efekt był silniejszy. Wyniki tej pracy jasno dowiodły, że zwiększenie szerokości filamentów badanego szczepu *A. gracile* jest mechanizmem obronnym powstającym nie tylko w wyniku obecności filtratora, ale także pochodzących od niego chemicznych sygnałów. Stały się tym samym podstawą do dalszych, bardziej szczegółowych eksperymentów.

Celem kolejnych badań (publikacja druga: Wejnerowski Ł., Cerbin S., Wojciechowicz M.K., Jurczak T., Glama M., Meriluoto J., Dziuba M.K., 2018. *Effects of Daphnia exudates and sodium octyl sulphates on filament morphology and cell wall thickness of Aphanizomenon*

gracile (Nostocales), *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales) and *Planktothrix agardhii* (Oscillatoriales). *European Journal of Phycology*. DOI: 10.1080/09670262.2018.1442585) było ustalenie czy ten typ odpowiedzi na sygnały chemiczne od *Daphnia* występuje również u innych szczepów *A. gracile* i u innych gatunków nitkowatych sinic. Ponadto badano czy zmiany w morfologii nici wywołane przez *Daphnia* są powiązane z częstością występowania heterocyst, zmianą ultrastruktury komórki i toksycznością danego szczepu. Wyniki potwierdziły wpływ zarówno naturalnych wydzielin, jak i komercyjnego kairomonu *Daphnia* (siarczanu oktylu, soli sodowej) na grubość nici wybranych szczepów sinic z rzędu Nostocales (były to cztery szczepy *A. gracile* i dwa *C. raciborskii*). Co ciekawe, nie zaobserwowano analogicznego wpływu na grubość filamentów *Planktothrix agardhii* z rzędu Oscillatoriales. Sygnały chemiczne od *Daphnia* nie wpłynęły natomiast na strukturę komórek sinic (np. grubość ściany komórkowej) i na ilość wytwarzanych heterocyst (poza jednym szczepem *A. gracile*). Badane reakcje sinic były niezależne od ich toksyczności. Wyniki tych interesujących eksperymentów sugerują, że zarówno bezpośrednie reakcje sinic na sygnały świadczące o obecności planktonowych filtratorów, jak i wykształcone długoterminowo strategie zapobiegające wyjadaniu są specyficzne dla gatunku lub nawet szczepu i zapewne podlegają również czynnikom środowiskowym (np. ilości i dostępności nutrietów). Kontynuacja tego tematu badawczego zaowocowała kolejną publikacją (Wejherowski Ł., Cerbin S., Dziuba M.K., 2015. Thicker filaments of *Aphanizomenon gracile* are more harmful to *Daphnia* than thinner *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Zoological Studies* 54:2), dzięki której wykazano, że obecność *Daphnia* powoduje wzrost udziału szerszych nici, zaś zmniejszenie udziału węższych nici w kulturze szczepu *A. gracile*. Jednak najciekawsze, moim zdaniem, wyniki dotyczyły porównania wpływu szerszych nici *A. gracile* i węższych nici *C. raciborskii* na historię życia *D. magna*. Ekspozycja wioślarek na grubsze filamenty *A. gracile* powodowała zmniejszenie długości ciała samic przystępujących do pierwszej reprodukcji i wielkości wylęgu w istotnie większym stopniu niż ekspozycja na cieńsze włókna *C. raciborskii*. Jednocześnie, w wyniku dodatkowego eksperymentu udowodniono, że obserwowane zmiany w historii życia *D. magna* są efektem bezpośredniej fizycznej obecności morfologicznie różnych włókien, a nie zakłócającego działania metabolitów wydzielanych przez sinice. To pierwsze tego rodzaju doniesienie w literaturze. Czwarta publikacja (Wejnerowski Ł., Cerbin S., Wojciechowicz M.K., Dziuba M.K., 2016. Differences in cell wall of thin and thick filaments of cyanobacterium *Aphanizomenon gracile* SAG 31.79 and their implications for different resistance to *Daphnia* grazing. *Journal of Limnology* 75: 634-643) dotyczyła analizy porównawczej grubości ściany komórkowej dwóch typów nici *A. gracile* (szerszych i węższych) w aspekcie ich odporności na wyjadanie przez planktonowych filtratorów z rodzaju *Daphnia*. W badaniach potwierdzono, że

grubość ściany komórkowej była dodatnio skorelowana z grubością nici. Ponadto, znaczna ilość komórek wegetatywnych w różnych stadiach autokatalitycznej destrukcji w węższych włóknach, świadczyła o ich gorszej kondycji fizjologicznej. Szersze nici dzięki większej sztywności były więc bardziej odporne na wyjadanie przez *Daphnia*. Wyniki te stanowią uszczegółowienie i kolejne dobre udokumentowanie wniosków zawartych we wcześniejszych publikacjach. Ostatnia z cyklu prac (Wejnerowski Ł., Cerbin S., Dziuba M.K., 2017. *Setae thickening in Daphnia magna alleviates the food stress caused by the filamentous cyanobacteria. Aquatic Ecology 51: 485-498*) poświęcona była aspektom plastyczności fenotypowej występującej u *Daphnia* w obecności filamentów sinic. W wyniku przeprowadzonego eksperymentu wykazano, że szczeciny trzeciej pary odnóży tułowiowych *D. magna* zwiększyły swoją grubość i długość w obecności nici *A. gracile*. Co więcej, pogrubienie szczecin indukowane obecnością nitkowatych sinic było dodatnio skorelowane z kondycją wioślarek. Wskazuje to, że obserwowane u *Daphnia* morfologiczne modyfikacje są przykładem fenotypowej adaptacji do bytowania w trudnych warunkach pokarmowych.

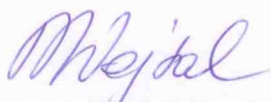
Warto podkreślić, że do oceny wpływu planktonowych filtratorów na ultrastrukturę komórki sinic wykorzystano transmisyjny mikroskop elektronowy (TEM), tym samym w pracach nr 2 i 4 znajdują się doskonałej jakości zdjęcia dokumentujące badane aspekty. Ponadto, na uznanie zasługuje niezwykle dogłębna analiza uzyskanych wyników, poparta bogatą literaturą w dyskusjach wszystkich pięciu publikacji.

Przedstawione w publikacjach wnioski, stanowią w mojej ocenie oryginalne osiągnięcie Doktoranta, w szczególności: 1) udowodnienie, że zmiany w szerokości włókien sinic jako mechanizm obrony przed wyjadaniem są indukowane za pomocą chemicznych sygnałów od *Daphnia*; 2) wykazanie, że grubość nici sinic może być ważnym czynnikiem w kształtowaniu historii życia *D. magna* oraz indukować korzystne dla kondycji wioślarek fenotypowe adaptacje aparatu filtrującego.

Te interesujące wyniki skłaniają mnie do podjęcia małej dyskusji z Doktorantem: w prezentowanych badaniach wykorzystywano głównie hodowlane szczepy sinic; niektóre z nich (np. Nostocales) wytwarzały indukowane mechanizmy obronne przed wyjadaniem. Czy w warunkach hodowlanych można zaobserwować występowanie konstytutywnych mechanizmów obrony przed roślinożernym zooplanktonem? Czy porównywano (także w literaturze) reakcje obronne związane ze zmianą morfologii nici (np. ich szerokości) u szczepów sinic hodowlanych i izolowanych z warunków naturalnych? Czy zależność „grubsze szczeciny aparatu filtrującego – lepsza kondycja *Daphnia*” jest determinowana zagęszczeniem filamentów sinic i czasem ekspozycji?

Podsumowując, bardzo wysoko oceniam rozprawę doktorską pana mgr Łukasza Wejnerowskiego. Na jej dużą wartość merytoryczną składają się umiejętnie zaplanowane, przeprowadzone i opublikowane w renomowanych czasopismach badania, podejmujące istotny w ekologii temat interakcji między sinicami a wioślarkami z rodzaju *Daphnia*. Wiele przedstawionych w rozprawie wyników ma charakter nowatorski. Doktorant wykazał się przy tym dużymi umiejętnościami samodzielnego prowadzenia badań eksperymentalnych oraz znajomością problematyki z zakresu biologii i ekologii organizmów planktonowych. Rozprawa doktorska pana mgr Łukasza Wejnerowskiego spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku z późniejszymi zmianami. Uważam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa jest podstawą do nadania Doktorantowi stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie ekologia.

Zwracam się więc z uprzejmą prośbą do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Łukasza Wejnerowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę zakres i jakość przeprowadzonych przez pana mgr Łukasza Wejnerowskiego badań, zwracam się do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



Dr hab. Adrianna Wojtal-Frankiewicz, prof. nadzw. UŁ