



**WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

dr hab. Adrianna Wojtal-Frankiewicz, prof. UŁ
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska UŁ
ul. Banacha 1/3; 90-237 Łódź
e-mail: adrianna.wojtal@biol.uni.lodz.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgra Wojciecha Krztonia pt.

„Zmiany różnorodności funkcjonalnej zooplanktonu jako odpowiedź na zakwity sinicowe” zrealizowanej pod kierunkiem dr hab. Agnieszki Pociechy, prof. IOP PAN w Instytucie Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk w Krakowie

Zgodnie z klasyczną definicją Diaz i Cabido (2001) różnorodność funkcjonalna jest miarą różnorodności biologicznej opartą na cechach funkcjonalnych gatunków występujących w danej zbiorowości. Cechy te określają gatunki pod względem ich ról ekologicznych, czyli sposobu, w jaki wchodzi w interakcje ze środowiskiem i z innymi gatunkami. Prowadzone od ponad dwudziestu lat badania potwierdzają związek między funkcjonalnymi rolami gatunków a reakcjami zbiorowiska na zmiany środowiskowe. Funkcjonalna klasyfikacja gatunków powinna zatem zwiększyć naszą zdolność do przewidywania, w jaki sposób zbiorowiska będą się zmieniać wraz ze zmianą warunków środowiskowych. Jest to jednak bardzo trudne, w szczególności w ekosystemach wodnych charakteryzujących się znaczną dynamiką i kompleksowością czynników środowiskowych. Kluczowy jest bowiem dobór takiej kombinacji cech funkcjonalnych, która najdokładniej odzwierciedli zmiany w funkcjonowaniu zbiorowiska w różnych warunkach siedliskowych. Szczególnym wyzwaniem wydaje się zastosowanie podejścia opartego na cechach funkcjonalnych w badaniach ekologii planktonu – zwłaszcza biorąc pod uwagę unikalne biochemiczne, fizjologiczne i morfologiczne przystosowania sinic umożliwiające im przetrwanie warunków stresu środowiskowego oraz adaptatywność plastyczności fenotypowej wielu gatunków zooplanktonu. Zapewne z tego powodu badania dotyczące zależności zooplankton-sinice, polegające na analizach różnorodności funkcjonalnej, są stosunkowo nieliczne.

Wyniki uzyskane przez pana mgra Wojciecha Krztonia, w ramach realizacji pracy doktorskiej, wypełniają częściowo tę lukę i dostarczają nowej wiedzy na temat różnorodności funkcjonalnej zespołów zooplanktonu w ekosystemach słodkowodnych.

Ogólna charakterystyka pracy doktorskiej

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgra Wojciecha Krztonia pt. „Zmiany różnorodności funkcjonalnej zooplanktonu jako odpowiedź na zakwity sinicowe” to badania dotyczące zależności zooplankton-sinice, mające na celu zbadanie wpływu masowych pojawów sinic wywołujących tzw. zakwit wody na liczebność grup funkcjonalnych zooplanktonu oraz wybrane wskaźniki różnorodności funkcjonalnej zespołu zooplanktonu. Pracę stanowi zbiór trzech artykułów: jednej pracy przyjętej do druku i dwóch prac oryginalnych opublikowanych w liczących się czasopismach międzynarodowych, w których Doktorant jest pierwszym i wiodącym autorem. Są to:

- Publikacja 1: Krztoń, W., Kosiba, J., Wilk-Woźniak, E. (202x). Features that matter: studying how phytoplankton drives zooplankton community functional traits. Artykuł jest zaakceptowany do druku w *Hydrobiologia* (IF=2,694; 100 pkt. MNiSW). Deklarowany wkład mgra W. Krztonia w tę publikację wynosi 80% i polegał na: przeprowadzeniu prac terenowych, analizie mikroskopowej prób metazooplanktonu, stworzenie bazy danych, analizie statystycznej danych, wizualizacji danych, interpretacji wyników, napisaniu i edycji manuskryptu oraz jego rewizji zgodnie z uwagami recenzentów.
- Publikacja 2: Krztoń, W., Kosiba, J. (2020). Variations in zooplankton functional groups density in freshwater ecosystems exposed to cyanobacterial blooms. *Science of the Total Environment* 730: 139044 (IF=7,963; 200 pkt. MNiSW). Wkład mgra W. Krztonia w tę publikację wynosi 85% i polegał na: przeprowadzeniu prac terenowych, analizie mikroskopowej prób metazooplanktonu, stworzenie bazy danych, analizie statystycznej danych, wizualizacji danych, interpretacji wyników, napisaniu i edycji manuskryptu oraz jego rewizji zgodnie z uwagami recenzentów.
- Publikacja 3: Krztoń, W., Kosiba, J., Pocięcha, A., Wilk-Woźniak, E. (2019). The effect of cyanobacterial blooms on bio-and functional diversity of zooplankton communities. *Biodiversity and Conservation* 28 (7): 1815-1835 (IF=2,935; 100 pkt. MNiSW). Zgodnie z deklaracją autorów wkład mgra W. Krztonia w tę publikację wynosi 70% i polegał, analogicznie jak we wcześniejszych publikacjach, na: przeprowadzeniu prac terenowych, analizie mikroskopowej prób metazooplanktonu, stworzenie bazy danych, analizie statystycznej danych, wizualizacji danych, interpretacji wyników, napisaniu i edycji manuskryptu oraz jego rewizji zgodnie z uwagami recenzentów.

Wszystkie prace są spójne tematycznie i odnoszą się do postawionych w dysertacji hipotez badawczych. Rozprawę doktorską otwiera przedstawiony wyżej spis publikacji oraz streszczenie w języku polskim i angielski. Streszczenie zawiera krótkie wprowadzenie w tematykę badawczą, cele pracy z odniesieniem do poszczególnych artykułów oraz ogólne podsumowanie. Niestety, nie ma w nim wzmianki o uzyskanych wynikach, ani choćby krótkich wniosków wynikających z przeprowadzonych badań. Następnie Autor zamieścił Wstęp, w którym definiuje grupę funkcjonalną oraz wyjaśnia znaczenie różnorodności funkcjonalnej w procesach ekosystemowych. W dalszej części Wstępu pan mgr W. Krztoń wskazuje na zagrożenia dla jakości wód oraz różnorodności gatunkowej i funkcjonalnej zooplanktonu, wynikające z dominacji sinic w ekosystemach słodkowodnych. Kolejny rozdział to cel rozprawy doktorskiej, którym było zbadanie

wpływu zakwitów sinic i jego intensywności na wybrane komponenty różnorodności funkcjonalnej zespołu zooplanktonu płytkich zbiorników wodnych. Doktorant weryfikował trzy hipotezy:

Hipotezę I: Dominacja sinic w środowisku prowadzi do selekcji wyspecjalizowanych cech funkcjonalnych w zespole zooplanktonu;

Hipotezę II: Zakwit sinic prowadzi do obniżenia liczebności grup funkcjonalnych zooplanktonu;

Hipotezę III: Zakwit sinic powoduje spadek różnorodności funkcjonalnej zooplanktonu.

Badania terenowe realizowane były w latach 2014 i 2017, w pięciu zbiornikach. Trzy z tych zbiorników to starorzecza Wisły (Tyniec 1, Tyniec 2 i Piekary), w których występują „krótkotrwałe” zakwit (trwające nie dłużej niż miesiąc). Pozostałe dwa, to sztucznie utworzone stawy usytuowane w okolicy Krakowa (Podkamycze 1 i Podkamycze 2) charakteryzujące się „długotrwałymi” zakwitami (trwającymi dłużej niż trzy miesiące). W części rozprawy poświęconej Terenowi badań, Autor zamieścił mapę z lokalizacją badanych ekosystemów. Kolejny rozdział to bardzo skrótowy opis najważniejszych wyników z odniesieniem do właściwej hipotezy badawczej oraz artykułu, w którym określone wyniki zostały zawarte. Przy tej okazji pragnę zwrócić uwagę, że w części dotyczącej publikacji 2 (str. 17 i 18) opisy sześciu grup funkcjonalnych, wydzielonych w ramach testowania hipotezy II, nie zgadzają się z klasyfikacją przedstawioną na Figurze 3. Powinno być: grupa 1 – wszystkożerne wrotki; grupa 2 – bakterio- i glonożerne wrotki oraz filtrujące wioślarki; grupa 3 – pozostałe bakterio- i glonożerne wrotki; grupa 4 – zwierzęta drapieżne; grupa 5 – zwierzęta glonożerne oraz grupa 6 – bakteriożerne orzęski. Właściwy opis grup, w odniesieniu do dendrogramu, znajduje się w oryginalnej publikacji nr 2.

W dalszej części pracy doktorskiej pan mgr W. Krztoń zamieścił krótkie podsumowanie z bardzo ogólną weryfikacją postawionych hipotez oraz spis cytowanej literatury. Do dysertacji włączone są wymienione wyżej, dwie oryginalne prace badawcze i jeden manuskrypt przyjęty do druku, w kolejności chronologicznej (202x-2019).

Ocena merytoryczna pracy z omówieniem poszczególnych publikacji składających się na rozprawę doktorską

Publikacja 1: Krztoń, W., Kosiba, J., Wilk-Woźniak, E. (202x). Features that matter: studying how phytoplankton drives zooplankton community functional traits. Artykuł zaakceptowany do druku w czasopiśmie Hydrobiologia.

Celem pracy było wyjaśnienie w jaki sposób cechy funkcjonalne fitoplanktonu wpływają na cechy funkcjonalne zooplanktonu (Hipoteza I rozprawy doktorskiej). Autorzy badali związek pomiędzy morfologią fitoplanktonu (tj. cechami funkcjonalnymi charakteryzującymi obronę przed wypasem) a cechami świadczącymi o przystosowaniach i rutynie wypasu zooplanktonu. Badania skoncentrowane były na gatunkach zaliczanych do proto- i metazooplanktonu. W pracy zastosowano drzewa decyzyjne (drzewa klasyfikacyjne dla cech jakościowych i drzewa regresyjne dla cech ilościowych), aby sprawdzić które cechy funkcjonalne fitoplanktonu promują dane cechy funkcjonalne zooplanktonu. Drzewa decyzyjne stworzono dla następujących cech funkcjonalnych zooplanktonu: długości ciała, potencjalnego źródła pokarmu, sposobu pobierania pokarmu oraz optymalnej wielkości cząstek pokarmu. Fitoplankton natomiast charakteryzowały takie cechy, jak: wielkości cząstek, kształt cząstek, potencjalna toksyczność, ruchliwość, obecność pancerza i kolców. Badania oparto na średniej ważonej cech funkcjonalnych zespołu (CWM). Tożsamość cech

dominująca w CWM była traktowana jako optymalna strategia życiowa. Wyniki jednoznacznie wskazały, że wszystkie cztery badane cechy funkcjonalne zooplanktonu najsilniej zależą od rozmiaru i kształtu komórek fitoplanktonu. Mniej istotnie na zooplankton wpływała toksyczność komórek oraz obecność kolców. Oznacza to, że dominacja małych glonów eukariotycznych o drobnych, nietoksycznych komórkach, bez struktur obronnych np. chlorofitów sprzyjała większej zmienności cech funkcjonalnych zooplanktonu posiadanych przez taksony, których nisze częściowo się pokrywały. Zaś przewaga w zbiorowisku fitoplanktonu dużych cząstek o problematycznych kształtach i/lub potencjalnej zdolności do produkcji toksyn (cechy charakterystyczne dla cyjanobakterii) sprzyjała występowaniu zwierząt planktonowych posiadających pewne wyspecjalizowane cechy np. drobnych bakteriożerców (orzęsków), dużych drapieżników (drapieżnych widłonogów lub *L. kindtii*) oraz glonożerców o dużych zdolnościach adaptacyjnych (np. *Daphnia* spp.).

Zachęcając Doktoranta do dyskusji związanej z tą interesującą publikacją, pragnę zapytać: Jak uzyskane wyniki odnoszą się do bogactwa funkcjonalnego i równomierności funkcjonalnej cech zooplanktonu? Jak te wskaźniki zmieniają się w ciągu sezonu wegetacyjnego, biorąc pod uwagę klasyczny model sukcesji planktonu w eutroficznym ekosystemie słodkowodnym? A przy okazji metodyki – proszę o uzasadnienie, że niewielka objętość pobieranych prób (jednorazowo 10 litrów) było reprezentatywna i wystarczająca do wykonania zaplanowanych analiz.

Publikacja 2: Krztoń, W., Kosiba, J. (2020). Variations in zooplankton functional groups density in freshwater ecosystems exposed to cyanobacterial blooms. Science of the Total Environment 730: 139044.

W pracy badano jak biomasa sinic i długość zakwitu wpływają na zagęszczenie grup funkcjonalnych zooplanktonu (Hipoteza II rozprawy doktorskiej). Materiał badawczy pobrano z dwóch zbiorników starorzecza Wisły, w których występują „krótkotrwałe” zakwity oraz ze stawów Podkamycze 1 i Podkamycze 2 z „długotrwałymi” zakwitami. Grupy funkcjonalne zooplanktonu wyznaczono na podstawie trzech cech funkcjonalnych dorosłych osobników każdego gatunku, takich jak: średnia długość ciała (BL), potencjalne źródło pokarmu (FS) i typ odżywiania (FT). Gatunki pogrupowano na podstawie podobieństwa ich cech funkcjonalnych za pomocą aglomeracyjnej hierarchicznej analizy skupień (metoda Warda). W celu zbadania wpływu biomasy sinic (zmienna ciągła), wpływu długości zakwitu sinic (zmienna kategoryczna) oraz interakcji obu wymienionych czynników na zagęszczenie grup funkcjonalnych zooplanktonu zastosowano uogólniony model liniowy (GLM). Wpływ długotrwałych zakwitów testowano jako czynnik selekcyjny gatunki przystosowane do dłuższego współwystępowania z sinicami. Analizy wykazały, że zagęszczenia osobników zooplanktonu w poszczególnych grupach funkcjonalnych były niższe w zbiornikach wodnych, w których występowały długotrwałe zakwity sinicowe. Odkryto również, że w zbiornikach w których występowały krótkotrwałe zakwity, biomasa sinic miała negatywny wpływ na zagęszczenia wszystkich zidentyfikowanych grup funkcjonalnych. W zbiornikach z długotrwałymi zakwitami sinic stwierdzono negatywny wpływ biomasy sinic na zagęszczenia trzech grup funkcjonalnych zooplanktonu: grupy 1 – wszystkożerne wrotki; grupy 2 – bakterio- i glonożerne wrotki oraz filtrujące wioślarki; grupy 3 – pozostałe bakterio- i glonożerne wrotki. Natomiast, wzrost biomasy sinic sprzyjał rozwojowi orzęsków i miał ponadto pośredni pozytywny wpływ na zagęszczenie drapieżnych gatunków zooplanktonu, które mogą żerować na bakteriożernych orzęskach. Autorzy

stwierdzili również, że zagęszczenie zwierząt glonożernych pozytywnie zależy od biomasy sinic, a wynik ten wskazuje na przystosowanie tych zwierząt do długotrwałej dominacji sinic. Reasumując, wyniki tej pracy wskazują, że zmiany zagęszczenia poszczególnych grup funkcjonalnych zależą od cech funkcjonalnych zwierząt, tj. od sposobu, w jaki gatunki oddziałują na całą sieć i mogą być różne w zależności od intensywności zakwitów, co działa jak czynnik selekcyjny przystosowane gatunki.

W pracy przedyskutowano zdolności adaptacyjne wioślarek z rodzaju *Daphnia* do bytowania w warunkach długotrwałego zakwitów np. rozwinięcie odporności na toksyny sinicowe lub modyfikacje struktur aparatu filtrującego. Jednak, nie jest dla mnie do końca jasne jak biomasa sinic i długotrwałe zakwitki wpływały na grupę 5 (zwierzęta glonożerne), do której zostały m.in. zaliczone wioślarki z rodzaju *Daphnia*. Proszę o wyjaśnienie. Ponadto, w pracy nie rozważano wpływu *Daphnia* spp. na zbiorowiska mikroorganizmów. Wioślarki, zwłaszcza w warunkach niedoboru pokarmu roślinnego, mogą silnie oddziaływać na pętlę mikrobiologiczną odżywiając się pierwotniakami oraz bakteriami, których jest dużo podczas zakwitów. Proszę o ustosunkowanie się do tej kwestii.

Publikacja 3: Krztoń, W., Kosiba, J., Pocięcha, A., Wilk-Woźniak, E. (2019). The effect of cyanobacterial blooms on bio-and functional diversity of zooplankton communities. Biodiversity and Conservation 28 (7): 1815-1835.

Celem tej pracy było: (1) zmierzenie i porównanie różnorodności biologicznej i funkcjonalnej zooplanktonu na podstawie wybranych wskaźników; (2) ustalenie, czy wskaźniki różnorodności biologicznej i funkcjonalnej korelują ze sobą; oraz (3) zbadanie wpływu krótko- i długotrwałych zakwitów sinic oraz wpływu biomasy sinic na zooplankton w małych, płytkich, eutroficznych zbiornikach wodnych. Badania weryfikowały hipotezę, że długotrwałe zakwitki wywołują zmiany polegające na zmniejszeniu różnorodności biologicznej i funkcjonalnej zooplanktonu słodkowodnego (Hipoteza III rozprawy doktorskiej). Do badań wybrano trzy klasyczne wskaźniki różnorodności biologicznej: bogactwo gatunkowe (SR) wyrażone jako liczba gatunków występujących w zbiorowisku, wskaźnik różnorodności Simpsona (D) i wskaźnik różnorodności Shannona (H). Do opisu różnorodności funkcjonalnej badanych zbiorowisk zooplanktonu zastosowano trzy wskaźniki różnorodności funkcjonalnej: bogactwo funkcjonalne (Fric), które opisuje ilość przestrzeni niszowej wypełnianej przez gatunki w zbiorowisku; równomierność funkcjonalną (Feve), która opisuje równomierność rozkładu liczebności w wypełnionej przestrzeni niszowej; i dywergencję funkcjonalną (Fdiv) opisującą stopień, w jakim rozkład liczebności w przestrzeni niszowej maksymalizuje rozbieżność cech funkcjonalnych w obrębie zbiorowiska. Wskaźniki różnorodności funkcjonalnej obliczono na podstawie zagęszczenia gatunków i ich cech funkcjonalnych. Dla każdego gatunku wybrano trzy cechy funkcjonalne: średnią długość ciała (BL), potencjalne źródło pokarmu (FS) i typ żerowania (FT). Wszystkie te cechy definiują rolę i pozycję gatunku w sieci troficznej, czyli określają rozmieszczenia gatunku w przestrzeni niszowej/funkcjonalnej i tym samym jego wpływ na procesy zachodzące w ekosystemie. BL określono na podstawie pobranych ze środowiska prób jako cechę ilościową, zaś FS i FT określono na podstawie przeglądu dostępnej literatury jako cechy jakościowe. W celu sprawdzenia korelacji pomiędzy biologicznymi i funkcjonalnymi wskaźnikami różnorodności zooplanktonu przeprowadzono analizę głównych składowych (PCA). Do zbadania wpływu biomasy sinic, długości zakwitów oraz interakcji obu czynników na wskaźniki różnorodności biologicznej i funkcjonalnej zooplanktonu przeprowadzono analizę uogólnionego modelu liniowego (GLM).

W prezentowanych badaniach uzyskano bardzo interesujące i wartościowe wyniki. Pokazały one między innymi, że wśród tradycyjnych wskaźników różnorodności tylko bogactwo gatunkowe (SR) różni się między ekosystemami z krótkimi i długotrwałymi zakwitami. W ekosystemach z krótkotrwałymi zakwitami stwierdzono większą liczbę gatunków w porównaniu z ekosystemami z długotrwałymi zakwitami. Wzrost biomasy sinic i długi czas trwania zakwitu powodowały natomiast modyfikacje różnorodności funkcjonalnej zespołu zooplanktonu. Wartości bogactwa funkcjonalnego (Fric) były niższe w zbiornikach wodnych z długotrwałymi zakwitami sinic przez cały sezon, co może wskazywać na niską komplementarność nisz uniemożliwiającą pełne wykorzystanie zasobów dostępnych dla danej społeczności. Stwierdzono również, że równomierność funkcjonalna (Feve) zespołu zooplanktonu była wyższa w zbiornikach wodnych z długotrwałymi zakwitami sinic co oznacza, że dominacja sinic zmniejsza rozproszenie funkcjonalne zooplanktonu, prowadząc do występowania gatunków o podobnych cechach funkcjonalnych, i tym samym ogranicza rolę zooplanktonu w ekosystemie. Jednocześnie, długość zakwitu nie miała wpływu na zróżnicowanie nisz - wartości dywergencji funkcjonalnej F_{div} nie różniły się pomiędzy zbiornikami, co może wskazywać na zdolność adaptacji gatunków w zbiorniku do warunków niedoboru zasobów poprzez przestawienie się na alternatywne źródło pokarmu. Ten wniosek nie jest jednak dla mnie całkiem jasny, zwłaszcza w zestawieniu ze stwierdzeniem, że „brak znaczącego wpływu biomasy sinic na wskaźniki Feve i F_{div} może być tłumaczony różnorodnością sinic. Wielkość, kształt (nitkowate i chrokokowe) i inne cechy funkcjonalne komórek sinicowych zapewniają różne nisze dla zooplanktonu”. Czyli podczas masowego pojawu sinic nisze pokarmowe dla zooplanktonu były na pewnym poziomie różnorodne i nie zmieniały się w zależności od długości zakwitu. Ale przecież bogactwo funkcjonalne (Fric) było niższe w zbiornikach z długotrwałymi zakwitami, co oznacza niepełne wykorzystanie zasobów i prowadzi do powstawania luk w przestrzeni niszowej. Wykorzystanie alternatywnych źródeł pokarmu przez zooplankton powinno kompensować ten efekt, ale wtedy wartość wskaźnika Fric nie powinna ulec zmianie w zbiornikach z długimi zakwitami. Proszę Doktoranta o bardziej szczegółowe wyjaśnienie tego aspektu.

Uzyskane w tej pracy wyniki udowadniają, że indeksy oparte na cechach funkcjonalnych dostarczają innych informacji niż klasyczne miary różnorodności biologicznej. Wskazują także, iż rozkład cech w zbiorniku nie zależy od bogactwa gatunkowego ani od innych aspektów tradycyjnego rozumienia różnorodności.

Wnioski końcowe

Praca doktorska Pana mgra Wojciecha Krztonia pt. „Zmiany różnorodności funkcjonalnej zooplanktonu jako odpowiedź na zakwity sinicowe” jest bardzo dobrym opracowaniem oryginalnym, o wysokiej wartości merytorycznej. Cel pracy został osiągnięty, a postawione hipotezy pozytywnie zweryfikowane.

Mając na względzie wszystkie walory przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej, a w szczególności:

- trafne zweryfikowanie aktualności problemu badawczego;
- dobrze ugruntowaną wiedzę dotyczącą opracowanego zagadnienia badawczego;
- właściwe zaplanowanie i wykonanie badań, dobór adekwatnej metodyki;

- poprawne konfrontowanie, argumentowanie, interpretowanie otrzymanych wyników, a także umiejętne dyskutowanie ich z innymi;
- umiejętność pisania manuskryptów naukowych, które są publikowane w znaczących periodykach z dyscypliny;
- oraz umiejętność właściwego wyciągnięcia wniosków;

stwierdzam, że praca doktorska Pana mgra W. Krztonia spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim, określone ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003, Nr 65, poz. 595 z późn. zm). W związku z tym, zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o dopuszczenie mgra Wojciecha Krztonia do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Adrianna Wojtal-Frankiewicz