



INSTYTUT OCHRONY PRZYRODY

POLSKIEJ AKADEMII NAUK

al. Adama Mickiewicza 33, 31-120 Kraków
tel. (12) 370-35-14, fax: (12) 632-24-32
e-mail: sekretariat@iop.krakow.pl
NIP 675-000-19-17

Kraków, 30 maja 2025 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Zofii Marii Konarzewskiej

Rozprawa doktorska mgr Zofii Marii Konarzewskiej zatytułowana „Allelopathy in different phenotypes of picoplanktonic cyanobacteria *Synechococcus* sp.: A key feature determining the structure of phytoplankton communities in the Baltic Sea. Oddziaływanie allelopatyczne różnych fenotypów pikoplanktonowej sinicy *Synechococcus* sp.: mechanizm decydujący o strukturze fitoplanktonu w Morzu Bałtyckim”, została wykonana w Szkole Doktorskiej Wydziału Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem dr Aldo Barreiro Felpeto Blue Biotechnology, Environment and Health Research Group, Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research (CIIMAR), University of Porto, Portugal (promotor) i dr hab. Sylwii Śliwińskiej-Wilczewskiej, Zakład Funkcjonowania Ekosystemów Morskich, Wydział Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego (promotor pomocniczy).

Na rozprawę składa się 5 publikacji lub manuskryptów opublikowanych lub submitowanych do czasopism naukowych z IF od 2.2 do 4.9. Wszystkie czasopisma to recenzowane czasopisma branżowe publikujące osiągnięcia z zakresu badań związanych ze środowiskiem morskim. Aktualnie, według bazy Scopus, trzy artykuły zostały opublikowane (art. 1, 2 i 3), zgodnie z deklaracją Autorki, jeden manuskrypt jest w opracowaniu (art. 4), a jeden manuskrypt został wysubmitowany do redakcji (art. 5). We wszystkich pięciu artykułach/manuskryptach pani Konarzewska jest pierwszym autorem i deklaruje swój wkład w zakresie 50-70%, co świadczy o samodzielności i dojrzałości Doktorantki.

Tematyka

Rozprawa doktorska koncentruje się na zagadnieniach związanych z allelopatią mikroorganizmów sinicowych i ich potencjalnym wpływem na kształtowanie się

różnorodności zbiorowisk fitoplanktonu. Badania dotyczyły trzech fenotypów sinicy *Synechococcus* sp. obecnej w Morzu Bałtyckim i ich allelopatycznego wpływu na mikroglony wyizolowane z przybrzeżnych wód Zatoki Gdańskiej.

Celem rozprawy doktorskiej było określenie czy oddziaływanie allelopatyczne może stanowić czynnik kształtujący zbiorowiska fitoplanktonu w Morzu Bałtyckim. W związku z tym celem, pani Konarzewska postawiła trzy hipotezy. W celu przetestowania tych hipotez wykonała następujące badania:

1. określenie wpływu czynników abiotycznych (temperatura, intensywność światła, zasolenie i koncentracja nutrientów) na aktywność allelopatyczną fenotypów *Synechococcus*;
2. ocena allelopatycznego wpływu fenotypów *Synechococcus* na szczepy różnych sinic i mikroglonów;
3. przetestowanie wpływu różnej siły allelopatii na wynik współzawodnictwa pomiędzy grupami wybranych współwystępujących gatunków fitoplanktonu;
4. wpływu różnej siły allelopatii na różnorodność naturalnych zbiorowisk fitoplanktonu współwystępujących z fenotypami *Synechococcus*.

Uzasadnienie podjętej problematyki badawczej zostało przedstawione wystarczająco. Pani Zofia Konarzewska wykazała istotność i ważność podjętego tematu, ujmując niezwykle ważne zagadnienia zmienności różnorodności fenotypowej (zmienności fenotypowej; phenotypic plasticity) i wykazując się znajomością odpowiedniej literatury w temacie.

Omówienie

Hipoteza 1: Czynniki abiotyczne sprzyjające wzrostowi fenotypów *Synechococcus* powodują także zwiększenie ich aktywności allelopatycznej.

Artykuł 1 i 2.

Autorka założyła, że zgodnie ze znanymi już badaniami, czynniki abiotyczne od których zależy jest wzrost *Synechococcus* to temperatura, intensywność światła, zasolenie i koncentracja związków pokarmowych. Jej badania potwierdziły te zależności (art. 1). Ze względu na to, że w zasadzie wzrost każdego gatunku jest zależny od wyżej wymienionych czynników, to chciałabym się dowiedzieć czy to jedyne czynniki abiotyczne wpływające na wzrost *Synechococcus*? Czy znany jest także wpływ innych czynników abiotycznych, jakich?

Kandydatka założyła także, że te same czynniki abiotyczne sprzyjają zwiększeniu aktywności allelopatycznej różnych fenotypów *Synechococcus*. Moje zainteresowanie wzbudziła interpretacja oddziaływań allelopatycznych. Według definicji przyjętej przez doktorantkę w art. 1 "allelopatia to produkcja allelochemicznych związków dzięki którym organizmy wydzielające je mogą konkurować ze współwystępującymi organizmami, oddziałując na międzygatunkową konkurencję i wpływając na różnorodność zbiorowisk fitoplanktonu". Zatem mam następujące pytania:

- czy w tych badaniach Doktorantki na podstawie, których powstał artykuł 1, zostały przeprowadzone analizy obecności związków i czy stwierdzono, które z nich to czynniki allelopatyczne?
- czy czynniki chemiczne wydzielane przez organizmy integralnie związane i obecne z *Synechococcus* (jeśli takie są) mogą być traktowane jako czynniki allelopatyczne? Na przykład, czy jeśli z danym fenotypem *Synechococcus* integralnie związane są inne organizmy, które wydzielają związki chemiczne to czy te związki są traktowane jako związki allelopatyczne *Synechococcus* czy też nie? Jak rozróżnić takie związki od związków wydzielanych przez *Synechococcus*?

Ocena reakcji organizmów na dodanie przesączu może wskazywać na pewne zjawiska, jednak wnioskowanie jest nieco spekulatywne jeśli brakuje określenia jakie związki chemiczne występują w przesączu wykorzystanym do eksperymentu. Co prawda, w literaturze znajdują się doniesienia o tym, że *Synechococcus* ma zdolność produkowania substancji allelopatycznych, jednak w prezentowanych badaniach, jeśli nie mierzono tych substancji, to wnioskowanie było wnioskowaniem pośrednim.

W kolejnym artykule (art. 2) Autorka opisuje badania dotyczące jednego związku o działaniu toksycznym, w tym przypadku traktowanym jako czynnik allelopatyczny (MC-LR). Wyniki badań wykazały, że niska koncentracja NO_3^- zwiększała koncentrację MC-LR. Nie ma więc bezpośredniego wskazania, że wzrost nutrientów (w tym przypadku azotu) powoduje wzrost aktywności allelopatycznej. Wynik badań jest wynikiem odwrotnym niż zakładała hipoteza. Czy to zjawisko jest zjawiskiem występującym także w odniesieniu do innych nutrientów np. fosforu i/lub do innych związków allelopatycznych?

Czy, według Autorki, czynniki allelopatyczne to zawsze czynniki toksyczne?

Hipoteza 2. Aktywność allelopatyczna różnych fenotypów *Synechococcus* wpływa na współwystępujące gatunki fitoplanktonu. Oddziaływanie allelopatyczne różni się w zależności od fenotypu *Synechococcus* oraz badanego gatunku targetowego (art. 3).

Proponuję zastąpić określenie „gatunek targetowy” na „gatunek docelowy”. Hipoteza jest ciekawą hipotezą jednak nie wszystkie gatunki wybrane do eksperymentu są typowymi gatunkami fitoplanktonowymi. Nie są nimi np. *Nostoc* sp. czy *Amphora* sp. chociaż, okresowo, mogą być obecne w fitoplanktonie z różnych powodów.

Interesującym wynikiem jest stwierdzenie, że zielenice były grupą, która okazała się być najbardziej wrażliwa na allelopatię *Synechococcus*. Proszę o komentarz do tego wyniku.

Nie wszystkie gatunki zielenic wybrane do eksperymentu reagowały tak samo. Jak Pani wytłumaczy to zjawisko?

Hipoteza 3. Siła oddziaływania allelopatycznego fenotypów *Synechococcus* kształtuje różnorodność zbiorowisk fitoplanktonu (manuskrypty 4 i 5):

- niska siła oddziaływania allelopatycznego jest związana z mniejszą różnorodnością fitoplanktonu, ze względu na dominację najsilniejszych konkurentów;
- średnia siła allelopatii zwiększa różnorodność zbiorowisk, dzięki koegzystencji słabszych konkurentów, które są aktywne allelopatycznie oraz silniejszych konkurentów, które są wrażliwe na allelopatię;
- wysoka siła oddziaływania allelopatycznego redukuje różnorodność, prowadząc do dominacji *Synechococcus*.

Proszę o wyjaśnienie co oznacza określenie „oscylacyjna koegzystencja”?

Czy użycie określenia „long-term” do badań trwających mniej niż 3 miesiące nie jest nadużyciem? Długoterminowe to badania wieloletnie. Manuskrypt 4 wymaga dopracowania, zwłaszcza dyskusja. Trudno jest mi zrozumieć połączenie hipotezy z wynikami badań.

Mam wątpliwości jeśli chodzi o przeprowadzenie eksperymentów przy użyciu organizmów pochodzących z hodowli (*Synechococcus*) i dodania całego zespołu planktonu pochodzącego ze środowiska naturalnego. Taki zespół zawiera nie tylko gatunki fitoplanktonu ale także wirusy, bakterie, grzyby, wiciowce, proto – i metazooplankton. Przefiltrowanie zebranego materiału przez siatkę 55 µm wyeliminuje tylko największe organizmy metazooplanktonowe. Według mojej opinii, trudno jest stwierdzić w takim układzie czy zmiany w różnorodności

zespołu zostały spowodowane allelopatią *Synechococcus* czy innymi procesami i zależnościami. Dysponując kolekcją kultur, w której znajdują się mikroglony wyizolowane z Morza Bałtyckiego można się pokusić o skonstruowanie uproszczonego zbiorowiska fitoplanktonowego np. złożonego z 4 gatunków mikroglonów i przeprowadzenie eksperymentów na takim zespole.

Mam także pytanie do metod w manuskrypcie nr 5:

- z opisu wynika, że próba fitoplanktonu do eksperymentu została pobrana jednorazowo we wrześniu. Istnieje zmienność sezonowa fitoplanktonu i należałoby to uwzględnić przygotowując eksperyment. Wnioskowanie o dominacji gatunków/rodzajów w jednorazowo pobranej próbce w zależności od czynników allelopatycznych nie jest pełnym wnioskowaniem. Takie eksperymenty należałoby przeprowadzić z próbami pobranymi w różnych sezonach. Gdyby wyniki wykazały podobny trend wówczas ostateczne wnioskowanie byłoby zdecydowanie silniejsze. Mam także pytania do Materiałów i Metod:
- jak zdefiniowano dominację organizmów i na podstawie czego: biomasy, zagęszczenia, liczebności?
- do jakiego poziomu zostały oznaczone organizmy: gatunku, rodzaju? W artykule wypisane są rodzaje. Czy różnorodność zespołu była określana na podstawie rodzajów czy gatunków? Z jednej strony pełne określenie wszystkich gatunków może być niemożliwe, a na pewno jest bardzo wymagające. Z drugiej strony ograniczenie się do rodzaju nie pozwoli w pełni wykazać różnorodności zespołów fitoplanktonu.

Uwagi ogólne:

1. Stwierdzenie, że okrzemki były najbardziej wrażliwą grupą jest zbyt dużą generalizacją. Do badań wybrano pojedyncze gatunki, a wiadomo jest, że reakcja organizmów bywa na poziomie nie tylko gatunków ale i szczepów. Poza tym w art. 3 wykazano, że przesącz z kultur *Synechococcus* równie silnie oddziaływał na aktywność fotosyntetyczną zielenic, jak i okrzemek.
2. Doktorantka napisała w *Metodyce i koncepcji badań*, że wszystkie trzy szczepy *Synechococcus* są obecne w M. Bałtyckim, ale czy wszystkie te trzy szczepy są obecne w Zatoce Gdańskiej? Czy można utożsamiać i generalizować procesy zachodzące w Zat. Gdańskiej z całym M. Bałtyckim?

3. Str. 186 przy opisie zachowań gatunków z różnych grup do sinic została przypisana (zapewne przez pomyłkę) okrzemka *Nitzschia fonticola*.
4. Do oceny zmian w różnorodności zespołu fitoplanktonu użyto wskaźnika Shannona-Wienera. To tradycyjny wskaźnik, który wielokrotnie był krytykowany. Zwracam uwagę na możliwość użycia wskaźników różnorodności funkcjonalnej, które są bardzo dobrym uzupełnieniem tradycyjnych wskaźników różnorodności biologicznej. Dostarczają one dodatkowych informacji na temat przestrzeni cech funkcjonalnych badanej społeczności i pozwalają śledzić zmiany, które są niewykrywalne za pomocą klasycznych miar różnorodności biologicznej (Krztoń *et al.* 2019. *The effect of cyanobacterial blooms on bio-and functional diversity of zooplankton communities. Biodiversity and Conservation*, 2019, 28.7: 1815-1835).

Podsumowanie

Podsumowując, przedstawione artykuły stanowią cykl publikacji powiązanych tematycznie i prezentują ważne badania w kontekście funkcjonowania ekosystemów wodnych.

Stwierdzam, że pani Zofia Maria Konarzewska osiągnęła zamierzony cel badań. Uważam jednak, że w skomplikowanym układzie zbiorowisk fitoplanktonu podlegającym oddziaływaniu czynników abiotycznych i biotycznych, zmieniających się sezonowo trudno jest jednoznacznie ocenić jak duży wpływ na kształtowanie się zbiorowisk fitoplanktonu ma allelopatia *Synechococcus* i tematyka ta wymaga dalszych badań.

Równocześnie stwierdzam, że Doktorantka wykazała się znajomością tematyki, literatury a także dużą samodzielnością przy konstruowaniu bardzo skomplikowanych eksperymentów. Wkład Doktorantki w koncepcję doświadczeń, stawianie hipotez, opracowanie wyników i przygotowanie publikacji oceniam wysoko. Krytyczne uwagi zawarte w recenzji wynikają z ciekawego ale i trudnego tematu, który zapewne będzie kontynuowany. W środowisku naturalnym zależności pomiędzy organizmami nie są zależnościami liniowymi lecz tworzą skomplikowaną sieć wzajemnych powiązań, którą niezwykle trudno opisać i udowodnić. Zaprezentowane tutaj wyniki badań należą tylko do wąskiego wycinka rzeczywistości i pokazują jedynie zależności liniowe. W przyszłych badaniach należy pamiętać, że oprócz szeregu czynników abiotycznych, istnieje wiele czynników biotycznych, które także biorą udział w tworzeniu się, istnieniu i obumieraniu zbiorowisk fitoplanktonowych. Są to m.in. grzyby, bakterie, wirusy, wiciowce, orzeski, proto- i metazooplankton, działające na różnych

poziomach takich jak: drapieżnictwo, patogenność, toksyczność, współistnienie, konkurencja itd.

Oceniana przeze mnie rozprawa odzwierciedla ogólną wiedzę p. Zofii Konarzewskiej w dyscyplinie nauk biologicznych, a publikacje zawarte w rozprawie stanowią oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Rekomendacja: Stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Zofii Marii Konarzewskiej spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). Wnioskuje do Komisji Uniwersytetu Gdańskiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie Nauki o Ziemi i Środowisku o dopuszczenie mgr Zofii Marii Konarzewskiej do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Dr hab., prof. IOP PAN Elżbieta Wilk-Woźniak