

Dr hab. prof. nadzw. Mykola Ovcharenko, Akademia Pomorska w Słupsku

Instytut Biologii i Ochrony Środowiska, Zakład Zoologii,

76-200 Słupsk, ul. Arciszewskiego 22 b

Słupsk, 20.05.2015 r.

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Piotra Perlińskiego, "Studium
mikrobiologiczne stref granicznych powietrze – woda oraz woda – osad w
kanale portowym w Ustce"**

wykonanej pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Zbigniewa Mudryka
w Zakładzie Biologii Eksperymentalnej Akademii
Pomorskiej w Słupsku

Recenzję wykonano w związku z uchwałą Rady Wydziału
Matematyczno-Przyrodniczego AP w Słupsku
- pismo Dziekana Wydziału, dr hab. prof. nadzw. Andrzeja
Ichy, z dnia 22 kwietnia 2015 roku

Przedmiotem recenzji jest szczegółowa ocena, czy rozprawa spełnia warunki określone w art. 1, rozdz. 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.), określanej dalej Ustawą. Wymogiem art. 13 Ustawy jest, by rozprawa doktorska, przygotowywana pod opieką promotora albo pod opieką promotora i promotora pomocniczego, o którym mowa w art. 20 ust. 7, powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego lub oryginalne dokonanie artystyczne oraz wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej lub artystycznej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej. Recenzję napisano pod kątem cytowanych wymogów Ustawy.

Omówienie i ocena problematyki badawczej

Praca doktorska mgr Piotra Perlińskiego jest poświęcona badaniom procesów mikrobiologicznych, zachodzących w ekotonach estuarnych stref przy morskich rzek. Jest to zadanie ciekawe poznawczo, ale również o fundamentalnym znaczeniu użytkowym. Wymaga też interdyscyplinarnego podejścia, stawiając przed Autorem niezwykle trudne

zadanie. Podjęta Autorem próbą wykrycia mechanizmów zbadanych zjawisk na podstawie analizy podstawowych parametrów mikrobiologicznych, chemicznych i hydrobiologicznych wraz z weryfikacją wyników za pomocą analizy statystycznej, ma istotne znaczenie dla postępu w działach biologii, medycyny, inżynierii środowiskowej i gospodarki wodnej.

Struktura formalna dysertacji

Praca obejmuje 128 stron i podzielona jest na 5 rozdziałów: 1. Wstęp, 2. Materiał i Metody, 3. Wyniki, 4. Dyskusja, 5. Wnioski. Poza tym, praca mieści załączniki, obejmujące 17 stron wydruku komputerowego bez numeracji. Uzyskane wyniki badań zostały udokumentowane w 19 tabelach i 50 rycinach. Wykaz literatury obejmuje 311 pozycji, w tym 23 polskojęzycznych, 2 wydrukowanych w języku rosyjskim i 286 anglojęzycznych. Dobór literatury obejmuje zarówno pozycje klasyczne, jak i najnowsze z zakresu problematyki badawczej, a poszczególne pozycje są prawidłowo wykorzystane i zacytowane w tekście. Pod względem językowym i redakcyjnym praca nie budzi zastrzeżeń. Maszynopis został przygotowany bardzo starannie. Brakuje jedynie wymaganego w artykule 13, ust. 6 Ustawy streszczenia w języku angielskim; zakładam jednak, że Autor rozprawy doktorskiej przedłożył je Komisji.

Omówienie układu i zawartości merytorycznej pracy

W rozdziale I (Wstęp, str. 5 - 32) Autor przedstawił rozległą hydrobiologiczną i fizyko-chemiczną analizę wybranych rodzajów estuarium i bardzo szczegółowo określił charakterystykę stref granicznych „powietrze – woda” i „woda – osad” w oparciu o istniejące dane, pochodzące ze źródeł literatury światowej. Autor zaznacza, iż estuarium mają istotne znaczenia dla gospodarki wodnej zarówno jak i prezentują ciekawy teren dla przeprowadzenia badań naukowych. W podsumowaniu rozdziału oznaczono cele i zadania pracy doktorskiej. Utylitarnym efektem badań zaznaczono rozpoznanie roli bakterii w procesie samooczyszczania się zbiorników wodnych, jakimi są morskie kanały portowe, poddane silnej eutrofizacji i antropopresji.

W rozdziale II (Materiał i Metody, str. 34 – 51) dokonano opisu terenu badań, oznaczono stosowane metody analiz parametrów chemicznych i mikrobiologicznych, wraz z analizą statystyczną. Stosowanie metody fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) do określenia liczebności i zróżnicowania taksonomicznego bakterii jest trafną decyzją w

wyborze odpowiedniego narzędzia do tego typu badań. Odwołanie się do klasycznych badań Biddanda i in. (1994), Dahlbaka (1892), Hoppe (1983, 1993), wraz ze stosowaniem współczesnych metodyk pobierania prób wody (Bradley, Owen 2007) pozwoliło wyraźniej oznaczyć specyfikę procesów mikrobiologicznych, zachodzących w strefach granicznych.

Rozdział III (Wyniki, str. 52 – 75) jest podstawowym elementem pracy doktorskiej, chociaż zajmuje stosunkowo niewielką objętość (23 strony) w porównaniu z rozdziałami 1 i 2 (27 i 17 stron). Materiał podano w zwięzły sposób, wykresy są łatwo czytelne. Brak oznaczeń koordynat geograficznych dla zdefiniowania punktów pobierania materiału nieznacznie utrudnia czytanie treści rozdziału, jednak nie wpływa w istotny sposób na analizę otrzymanych danych (koordynaty są podane na rycinie 18, str. 38).

Odnosząc się do wyników badań, przedstawionych przez Autora, trudno wychwycić, ile w istocie prób zostało przebadanych, nie udało się znaleźć też informacji o konkretnych datach pobierania materiału i ilości pobranych prób na każdej stacji (na stronie 39 zaznaczono, iż materiał pobierano „w cyklu kwartalnym” w latach 2010 – 2013).

Niekwestionowanym osiągnięciem Doktoranta jest połączenie różnych metodyk, pracujących na różnych poziomach oceny materiału badawczego. Autor prezentuje i szeroko omawia przyjęte w pracy strategie badawcze. Specjalne strategie były w tym przypadku konieczne ze względu na złożoność procesów mikrobiologicznych, zachodzących w estuarnych strefach przy morskich rzekach.

Dane, dotyczące profilu jonowego wody w kanale portowym w Ustce, wykazały wzrost stężenia jak kationów tak i anionów w warstwie kontaktowej woda-osad. Natomiast stężenie białek, węglowodanów i tlenu rozpuszczonego, a także pH we wszystkich strefach granicznych nie wykazywało istotnych zmian we wszystkich badanych strefach granicznych. Największe różnice stężeń notowano w przypadku lipidów (maksimum na stanowisku, zlokalizowanym w strefie rzeka-morze i prawie czterokrotnie obniżenie w basenie węglowym (str. 52).

Największą liczebność i biomasę bakterii zarejestrowano w błonie powierzchniowej. Wykazano także wyraźny wzrost ogólnej liczebności bakterii we wszystkich strefach w sezonie letnim (str. 53). Analiza uzyskanych danych dotyczących określenia liczebności bakterii wskazała, że w całym cyklu badawczym i we wszystkich strefach dominowały martwe komórki bakterii. Największą liczebność tych organizmów równo jak i największą różnicę liczebności pomiędzy żywymi i martwymi komórkami

bakterii notowano w strefie powietrze-woda (str. 55).

Analizując różnicowanie taksonomiczne bakterii, Autor, skutecznie stosując metodę fluorescencyjnej hybrydyzacji, potwierdza występowanie, co najmniej sześciu grup taksonomicznych z dominowaniem *Gammaproteobacteria* i *Cytophaga-Flavobacterium* (str. 60).

Badania dotyczące fluktuacji liczebności bakterii heterotroficznych wykazały wyraźny wzrost liczebności i biomasy w strefie powietrze-woda w period wiosenno-letni (str. 62). Minimalną liczebność bakterii heterotroficznych zaobserwowano w sezonie jesień-zima. Stan zanieczyszczenia wody badanego estuarium według wskaźnika Korsha (Q) na wszystkich stanowiskach badawczych wskazywał na wodę umiarkowanie zanieczyszczoną. Największy poziom zanieczyszczenia wody zaobserwowano wiosną 2013 roku w strefie kontaktowej woda-osad (str. 62). Badania dynamiki zmian wtórnej produkcji bakterii wykazało wyraźne zmiany sezonowe. Maksymalne tempo produkcji wtórnej stwierdzono wiosną 2012 r. w strefie woda-osad. Maksymalne tempo destrukcji materii organicznej notowano na stanowisku w południowej części kanału portowego. Procesy depolimeryzacji materii organicznej najmniej intensywnie przebiegały w strefie granicznej powietrze-woda (str. 65).

Na stronach 65 - 68 przedstawiono bardzo szczegółowe dane dotyczące zdolności bakterii heterotroficznych, zasiedlających kanał portowy w Ustce do hydrolitycznej destrukcji organicznych związków wielocząsteczkowych. Otrzymane dane są bogato ilustrowane i wyglądają przekonująco. Z danych Autora wynika, iż zdolnością do depolimeryzacji białek cechowało od 23% do 77 % bakterii, zamieszkujących badane strefy graniczne. Wszystkie grupy fizjologiczne najliczniej występowały w strefie powietrze-woda (tab. 10). Bakterie, syntezujące chitynaze, składały od 1% do 7 % ogólnej liczby bakterii heterotroficznych (str. 65). W strefie powietrze-woda dominującą grupą fizjologiczną występowały bakterie proteolityczne. Stosunkowo liczną grupą fizjologiczną stanowili też bakterie lipolityczne. Podobnie jak w przypadku badanych warstw wody również na wszystkich stanowiskach najmniejszy udział miały bakterie, hydrolizujące chitynę (tab. 10, ryc. 39).

Wyniki badań dotyczące oznaczenia poziomu aktywności enzymów hydrolitycznych (st. 69 – 75) są zaprezentowane na rycinach 41 – 44. Na podstawie danych, przedstawionych na wykresach, stwierdzono, iż największą aktywnością

hydrolityczną wśród testowanych enzymów charakteryzowały się lipazy i fosfatazy; najniższą – chitynazy i celulazy, co częściowo potwierdza dane, otrzymane podczas analizy zdolności hydrolitycznej w podrozdziale 3.1. Zaobserwowano również tendencje do obniżenia aktywności lipaz i fosfataz wraz ze zbliżaniem do morza (str. 70). Najwyższy poziom aktywności egzoenzymów zaobserwowano w sezonie wiosenno-letnim, najniższy – jesienią i zimą.

Z danych otrzymanych podczas badania poziomu aktywności oddechowej bakterii wynika, że błona powierzchniowa występuje jako miejsce największej bakteryjnej aktywności respirometrycznej (str. 72). Wyniki badań, dotyczących poziomu specyficznego oddychania pojedynczych komórek bakteryjnych, świadczą o zmniejszeniu poziomu oddychania w kierunku ruch mas wodnych w stronę morza (str. 74). Największy poziom oddychania pojedynczych komórek bakterii notowano w wodzie, pobranej ze środkowej warstwy wody.

Rozdział IV (str. 78 – 98) poświęcono dyskusji nad interpretacją wyników badań. Wykryte w procesie badań Autora zjawisko stratyfikacji pionowej i zróżnicowanie parametrów chemicznych wody w profilu horyzontalnym potwierdza się w licznych publikacjach innych autorów. Homogenność stężenia węgla rozpuszczalnego w kanale portowym w Ustce Autor uzasadnia wpływem wiatru i nurtu, powołując na wyniki podobnych badań, przeprowadzonych w Chinach, USA, Francji i w Polsce. Następnie omawia się wyniki badań dotyczącej liczebności bakterii, zasiedlających badane warstwy wody i możliwe przyczyny jej zmian. Dominacja komórek martwych według Autora i innych badaczy może być umotywowana wyżeraniem komórek żywych przez inne organizmy, stosunkowo długim czasem biodegradacji martwych bakterii, fluktuacjami poziomu zasolenia i oddziaływaniem promieniowania słonecznego. W oparciu o dane własne i wyniki analizy literatury Autor wnioskuje, że stosunkowo niski poziom wtórnej produkcji bakteryjnej w błonie powierzchniowej prawdopodobnie jest związany z akumulacją w tej strefie metali ciężkich, polichlorowanych biofenoli oraz pestycydów i negatywnych oddziaływań promieniowania słonecznego. Omawiając rolę mikroflory heterotroficznej w biotransformacji materii organicznej Autor zwraca uwagę na wyjątkowe znaczenie bakterii proteolitycznych procesach biodegradacji białek. Dużo uwagi udziela się charakterystyce lipolitycznych bakterii, występujących w zbiornikach wodnych, bakterii amylolitycznych i hydrolitycznych oraz ich aktywności enzymatycznej.

W rozdziale V (str. 99 – 100) Autor formułuje pięć głównych wniosków,

dotyczących realizacji założonego programu badawczego. Wnioski korespondują z celem i głównymi hipotezami badawczymi, określonymi w podrozdziale 1.4 (str. 32).

Charakterystyka formalna pracy i uwagi krytyczne

Praca jest poprawna z formalnego punktu widzenia, napisana dobrym językiem. Nie mam istotnych zastrzeżeń redakcyjnych do tekstu. Rozprawa posiada logiczną strukturę rozdziałów. Teoretyczny charakter ma rozdział I oraz duża część rozdziału II. Rozdziały III i V prezentują przeprowadzone badania i ich wyniki. Cennym uzupełnieniem tych rozdziałów są zamieszczone w pracy tabele i wykresy. W rozdziale IV zaprezentowano wieloaspektową dyskusję wyników badania. Praca jest nierówna – obok bardzo dobrych rozdziałów przedstawiających w dokładny sposób przeprowadzone badanie empiryczne oraz jego wyniki, znajdują się nieco moim zdaniem zbyt rozbudowane rozdziały teoretyczne, prezentujące podstawowe pojęcia hydrologii, hydrochemii i nauk pokrewnych (rozdziały I i częściowo II). Nie udało się uniknąć powtórzeń w rozdziałach III i IV przy omówieniu wyników badań. Brak szczegółowej informacji o konkretnych datach pobierania materiału i ilości pobranych prób nieco utrudnia weryfikację wyników przeprowadzonych badań, zmuszając czytelnika do poszukiwania niezbędnej informacji w licznych tabelach i tekście pracy. W wykazie literatury brakuje kilku pozycji, wymienionych w tekście pracy: Pfannkuche 1992 (str 31), Zöllner i Kirsch 1962 (str 42), Samyszew 1986 (str 46). Natomiast w tekście pracy brakuje posyłań na niektóre źródła, wymienione w wykazie literatury: Carlson et al. 1988; Pfannkuche 1993, Pfannkuche et al. 1999. Brak w tekście pracy cytowani pracy Gui-Peng et al. 2009, prawdopodobnie spowodowany błędną interpretacją nazwiska autora z Chin Yang Gui-Peng-a (Yang i in. 2009), cytowanego na stronie 17.

Ocena dysertacji pod kątem wymogów art. 13 Ustawy

Praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Autor wykazał się dobrą znajomością dorobku literatury z zakresu objętego przedmiotem rozprawy. Wykazał też umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej poprzez zaprojektowanie, przeprowadzenie i wnioskowanie z przeprowadzonych badań empirycznych. Proces weryfikacji przyjętych hipotez nie budzi wątpliwości, Autor umiejętnie przeprowadził dyskusję naukową wyników badań i skonfrontowała je z istniejącym dorobkiem

teoretycznym. W pełni zrealizował przyjęty cel rozprawy.

Wnioski końcowe

Podsumowując recenzję stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Piotra Perlińskiego, pod tytułem "Studium mikrobiologiczne stref granicznych powietrze – woda oraz woda – osad w kanale portowym w Ustce", przygotowana pod opieką promotorską Pana prof. dr hab. Zbigniewa Mudryka w Zakładzie Biologii Eksperymentalnej Akademii Pomorskiej w Słupsku stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Autora w dziedzinie nauk biologicznych. Rozprawa potwierdza też umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Wyczerpuje to wymagania art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 . Nr 65, poz. 595; z późn. zm.). Wniosuję o dopuszczenie mgr Piotra Perlińskiego do kolejnych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

