

Warszawa, 26.08.2017 r.

Dr hab. Zbigniew Borowski, prof. IBL
Zakład Ekologii Lasu
Instytut Badawczy Leśnictwa
Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3
05-090 Raszyn

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Małgorzaty Połatyńskiej

„Seasonal differentiation of hypogeous fungi in rodent diet in selected forest reserves of Central Poland”

„Sezonowe zróżnicowanie grzybów podziemnych w diecie gryzonia w wybranych rezerwach leśnych Polski Środkowej”

Formalne aspekty rozprawy

Recenzowana rozprawa doktorska powstała pod opieką prof. dr hab. Marii Ławrynowicz oraz dr Patrycji Podlaszczuk, w Pracowni Algologii i Mykologii na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Prace zawarte w rozprawie finansowane były z dotacji celowej na działalność związaną z prowadzeniem badań naukowych służących rozwojowi młodych naukowców.

Rozprawa napisana jest w języku angielskim, ma formę maszynopisu i klasyczny dla rozpraw doktorskich układ, przy czym podsumowanie napisane w języku polskim i angielskim znajduje się na końcu rozprawy. Pracę rozpoczyna wstęp wraz z celami badań, rozdział teren badań zawiera opis badań, charakterystykę kompleksów leśnych, w których prowadzone były badania, charakterystykę mykologiczną i charakterystykę gleb oraz warunki pogodowe jakie zaistniały w trakcie wykonywania prac terenowych. Rozdział metody i materiał zawiera opis obiektów badań, czyli analizowanych w rozprawie grzybów podziemnych, badanych gatunków gryzoni, opis zebranych prób i sposób przygotowania ich do analiz, a także zastosowaną statystykę. Kolejne rozdziały – wyniki - liczą 17 stron, - identyfikacja taksonów grzybów, w którym autorka charakteryzuje poszczególne gatunki zamieszczając także ich zdjęcia liczy 25 stron, dyskusja - 11 stron, a ostatni rozdział – wnioski opisany jest na 1 stronie. Rozprawa liczy łącznie 95 stron, zawiera 5 map, 12 tabel, 15 rycin i 12 zdjęć i rysunków grzybów; cytuje 111 pozycji literatury, zarówno polskiej jak i zagranicznej. Na końcu pracy na 11 stronach zamieszczone są załączniki zawierające 34 tabele uzupełniające jej zawartość.

Ocena naukowego znaczenia rozprawy

Mykofagia, czyli inaczej wykorzystanie przez zwierzęta grzybów jako źródła pokarmu jest zjawiskiem dobrze znanym od bardzo dawna. Wiemy bowiem, że stanowią one pokarm wielu gatunków zwierząt występujących w bardzo różnych ekosystemach. Przy czym w przypadku grzybów podziemnych to zwierzęta są głównym wektorem dyspersji i

przenoszenia zarodników, ponieważ grzyby te nie mają mechanizmów wyrzutu zarodników w powietrze. Badania filogenetyczne wskazują na fakt, iż sposób owocowania u tych grzybów wyewoluował kilkakrotnie niezależnie u różnych taksonów, co wskazuje na fakt, iż endozoochoria jest ważnym wektorem przenoszenia zarodników.

Podziemne grzyby tworzące ektomycoryzy są niezmiernie ważne dla ekosystemów leśnych przede wszystkim poprzez związki symbiotyczne z roślinami leśnymi, w tym z drzewami. Ich dojrzałe owocniki emitują silne zapachy, które przyciągają mykofagi zjadające te grzyby i roznoszące ich zarodniki. Jak ważne jest zoochoria w ekosystemie leśnym najlepiej świadczy fakt, iż mykofagi mogą pośrednio modyfikować sukcesję roślinną poprzez dyspersję (roznoszenie) grzybów mikoryzowych, tym samym promując rozprzestrzenianie się i regenerację gatunków roślin tzw. obligatoryjnie mikoryzowych. Niektórzy naukowcy stawiają nawet hipotezę, że bez rozprzestrzenianie przez zwierzęta zarodników grzybów podziemnych, wzrost, regeneracja i adaptacja zależności grzybów mikoryzowych i drzew będzie znacznie osłabiona, jeśli nie niemożliwa.

Wiele różnych gatunków zwierząt, w różnych ekosystemach okazało się być mykofagami, przy czym mogą różnić się one stopniem udziału grzybów w diecie. Dlatego Maser i in. (2008) klasyfikują mykofagów jako: 1) obligatoryjnych, 2) Preferujących i 3) Oportunistycznych.

Grzyby Hypogeous i inne makrozarodnikowe są częścią diety drobnych ssaków, w tym gryzoni (norników, nornic, myszy, popielic i wiewiórek, ostatnio także stwierdzono, że ssaki owadożerne z rodziny ryjówkowatych często także zjadają grzyby podziemne).

Jak widać, waga zależności zachodzących pomiędzy mykofagami a grzybami podziemnymi znacznie wykracza poza zwykłą naukową ciekawość. Wydaje się bowiem, iż taka zależność, a w zasadzie sieć zależności, jest niezmiernie ważna w ekosystemach leśnych, stanowiąc nawet o ich stabilności.

Do chwili obecnej prowadzono na świecie nieliczne badania na tym zagadnieniu, prawdopodobnie z uwagi na trudności metodyczne. Najwięcej takich badań wykonano w Stanach Zjednoczonych, Australii, ostatnio zaś zaczęto także zajmować się tym zagadnieniem w Europie. Jednakże, należy zaznaczyć, że wciąż są to badania pionierskie bardzo potrzebne do opisu i zrozumienia otaczającej nas przyrody. Przy czym, badania prowadzone w innych krajach Europy dotyczyły zupełnie innych ekosystemów leśnych, niż te opisane w recenzowanej rozprawie. A oczywistym jest, że sieć zależności pomiędzy grzybami ektomikotryzowymi, roślinnością i mykofagami zależy od warunków środowiskowych, gleby, klimatu oraz pokrywy roślinnej (typu drzewostanu).

Chciałbym zaznaczyć, iż są to pierwsze w Polsce badania opisujące dokładnie zależności pomiędzy gryzoniami i grzybami podziemnymi z ich dokładnym opisem, dlatego przedłożona do recenzji rozprawa doktorska jest pod tym względem unikatowa.

Podstawowym i ogólnym celem badań postawionym przez doktorantkę było określenie znaczenia grzybów podziemnych w diecie dwóch pospolitych gatunków gryzoni nornicy rudej (*Clethrionomys glareolus*) i myszy wielkookiej leśnej (*Apodemus flavicollis*) zamieszkujących ekosystemy leśne Europy. W tym celu autorka postawiła następujące trzy cele szczegółowe:

- 1) Określenie różnorodności zgrupowania grzybów podziemnych w diecie dwóch w/w gatunków gryzoni analizowanej na podstawie ich zawartości w kale tych zwierząt.
- 2) Poznanie sezonowego zróżnicowania w występowaniu zarodników grzybów w diecie tych gryzoni na podstawie analizy prób zebranych w trzech sezonach: wiosną, latem i zimą.
- 3) Określenie zróżnicowania w występowaniu zarodników grzybów w pokarmie gryzoni w zależności od terenu badań, gatunku gryzonia i cech indywidualnych osobnika takich jak płeć i wiek.

Do najważniejszych zalet zastosowanego w rozprawie podejścia badawczego należą:

- 1) Pierwsza w Polsce analiza zachowań pokarmowych dwóch gatunków gryzoni pod kątem ich preferencji pokarmowych w stosunku do grzybów podziemnych w ekosystemach leśnych Polski.
- 2) Dokładna charakterystyka i opis (wraz z rysunkami) grzybów podziemnych zjadanych przez nornice i myszy leśne.

Autorka wykazała, że grzyby podziemne są atrakcyjnym pożywieniem dla nornic i myszy leśnych w okresie letnim, przy czym stwierdzono istotne różnice w średniej liczbie zjadanych zarodników pomiędzy dwoma terenami badań (więcej ich było w Spale). A badane gryzonie odżywiały się dwunastoma rodzajami grzybów podziemnych.

Na podstawie analizy morfometrycznej zarodników autorka stwierdziła także, że grzyby z rodzaju *Rhizopogon* są dostępne dla gryzoni przez cały rok. Wykazała także międzygatunkowe różnice w ich konsumpcji, nornice częściej niż myszy leśne zjadały grzyby podziemne, dlatego u tego gatunku stwierdzono wyższe taksonomiczne zróżnicowanie grzybów podziemnych.

Młode osobniki obu gatunków pobierały więcej grzybów, niż osobniki dorosłe, przy czym u myszy leśnej stwierdzono także, że więcej grzybów zjadały samice.

Reasumując, rozprawa doktorska Pani mgr Małgorzaty Połatyńskiej za pomocą ciekawie zaplanowanych badań, w unikatowy sposób analizuje zależności występujące pomiędzy grzybami podziemnymi, a dwoma gatunkami mykofagów: nornicą rudą i myszą wielkooką leśną.

Uwagi krytyczne pytania i wątpliwości

Przede wszystkim zastanawia mnie przyczyna umieszczenia streszczenia na końcu, zamiast na początku pracy. W chwili obecnej standardem jest lokalizowanie streszczenia na początku pracy, podobnie jak w artykułach publikowanych. Ponadto w streszczeniu znalazły się niepotrzebnie informacje z terenu i metodyki badań, „zaciemniające” otrzymane wyniki. W związku z czym nie czyta się go łatwo tzn. jednym tchem.

Wstęp

We wstępie zabrakło mi informacji odnośnie znaczenia grzybów podziemnych w ekosystemach leśnych.

Autorka cytując prace Drożdża z lat 60 tych dotyczące pokarmu zjadanego przez nornice i myszy leśne (Drożdż 1966) oraz jego strawialności i przyswajalności (Drożdż 1968) wskazuje, że autor ten wykazał istotność grzybów jako pokarmu zjadanego przez w/w gatunki gryzoni. Precyzując, autor ten wykazał udział grzybów w diecie badanych gryzoni tylko w pierwszej pracy (Drożdż), ale wszystkie zjadane przez gryzonia grzyby opisał jako ogólnie jako grzyby. Wydaje się więc, że w większości rejestrował on grzyby kapeluszowe zjadane przez gryzonia, dziwi więc powołanie się na tą pracę w kontekście grzybów podziemnych. Zastanawia mnie także, w jaki sposób doktorantka chciała wykazać istotność mykofagów w ekosystemie leśnym na podstawie udziału grzybów podziemnych w diecie dwóch badanych gatunków gryzoni? Wydaje się to niemożliwe, choć taki ambitny cel autorka sobie w tej pracy postawiła.

Teren badań

Nie bardzo wiadomo, dlaczego wybrano do badań akurat te dwa tereny, czy istniały ku temu jakieś przesłanki, czy miała to być po prostu replikacja? Autorka nie odnosi się w ogóle do procedury wyboru tych lokalizacji. Jeżeli miała to być replikacja zwiększająca siłę wnioskowania, to wybór jedynie dwóch miejsc nie jest wystarczający, powinno ich być minimum cztery (w zależności od obserwowanej zmienności analizowanych cech). Podobnie brak jest metodyki wyboru miejsc odłowu gryzoni w mikro skali (tzn. wewnątrz terenów badań), a trzeba pamiętać, że wybór miejsca warunkuje otrzymane wyniki. Dlatego autorka powinna wybrać albo bardzo podobne lokalizacje pod względem florystycznym i glebowym (replikacje) albo bardzo skonstrastowane z postawioną wyraźną hipotezą. Niestety nie doszukałem się w recenzowanej pracy takiego wnioskowania.

Ponadto, opis metodyki odłowu gryzoni jest rozrzucony w dwóch miejscach (w rozdziałach teren badań i materiał i metody) i opisany zbyt mało dokładnie. Nie wiadomo też dlaczego w Spale rozstawiono łącznie 30 pułapek żywołownych na gryzonia, a w Konewce tylko 20 pułapek?

Metody i materiał

Nornica ruda jest gatunkiem gryzonia najczęściej występującym w lasach Polski, a nie gatunkiem najczęściej występującym w Polsce.

Nie ma dowodów na to, że u nornicy, w zależności od środowiska, grzyby mogą dominować w jej diecie! Zresztą powyższego stwierdzenia autorka nie poparła żadnym cytatem.

Metodyka odłowu gryzoni – Z uwagi na duże areale (większe niż u norników) pułapki na gryzonia leśne powinny być rozstawione co 15 m, a w tej pracy były co 5-10 m. Prawdopodobnie podając okres odłowu podaje się liczbę pułapko-nocy (a nie dni i nocy), która zazwyczaj z uwagi na zmienną łowność, nie powinna być krótsza niż 5. W pracy podano jako okresy połowu liczbę od 4 do 5 dni i nocy, podczas gdy, okresy połowu wahały się od 3 do 6 pułapko - nocy. Przy czym trudno jest porównać sezonowo zebrane próby, jeśli różniły się one znacznie okresami połowu. Brakuje także informacji, w jaki sposób ważono złowione gryzonia oraz jak rozpoznawano ich gatunek, płeć i wiek. Prawdopodobna ocena gatunku, płci i wieku u gryzoni stanowi często nie lada wyzwanie nawet dla specjalistów. Bardzo łatwo jest też pomylić gatunki gryzoni – np. mysz wielkooką leśną z myszą zaroślową. A dla niespecjalistów trudne jest nawet odróżnienie nornicy rudej od norników.

W podrozdziale metody statystyczne opisano podział miejsc odłowu gryzoni w zależności od odległości od drogi leśnej/polnej, przy czym brak jest opisu tego zagadnienia w metodach odłowu gryzoni. Poza tym, jak rozumiem taki podział służy weryfikacji hipotezy odnośnie znaczenia drogi w dostępności grzybów podziemnych? Brak jest jednak tej hipotezy we wstępie pracy.

Wyniki

Zebrany materiał do badań jest stosunkowo niewielki, stanowi bowiem łącznie 247 prób zebranych od dwóch gatunków, na dwóch terenach badań w latach 2013-2015. Co daje średnio 10,3 próby na gatunek, lokalizację i na konkretny sezon (maj, lipiec, październik).

W wynikach nie ma informacji od ilu osobników pochodziły zebrane próby, czy były to różne osobniki, czy może powtarzały się pomiędzy sezonami badań. Jest to bardzo ważna informacja mająca wpływ na zastosowaną statystykę. Jeżeli osobniki powtarzały się należy zastosować procedurę powtórzonych pomiarów. Zdarza się bowiem, że pewne konkretne osobniki mają predyspozycje do pobierania konkretnego pokarmu – np. grzybów podziemnych.

Rys. 1 - Ilustrujący sezonową zmienność średniej liczby zarodników grzybów znajdującą w diecie gryzoni nie uwzględnia gatunków gryzoni, miejsc ich połowu i lat badań. Pomimo, iż w/w czynniki okazały się istotne w zróżnicowaniu udziału grzybów podziemnych w diecie gryzoni. Wydaje się także, że średnia liczba zarodników powinna być ważona liczbą odłowionych gryzoni.

Rys. 2. - Na rysunku tym nie uwzględniono gatunków gryzoni. Ponadto, nie jest wykluczone, iż różnice pomiędzy terenami badań mogły wynikać z różnicy w łowności gryzoni. Aby to przetestować należałoby losowo wybrać taką samą liczbę gryzoni w Spale i porównać ją z gryzoniami odłowionymi w Konewce.

Rys. 3 i 4 – Nie wiem na jakiej podstawie autorka połączyła dane zebrane z dwóch terenów badań, podczas gdy, były one istotnie różne pod względem konsumowanych przez gryzonie grzybów podziemnych. Na rysunkach tych brakuje rozdziału wyników na tereny badań.

Znaczenie drogi – autorka analizuje znaczenie odległości lokalizacji pułapek żywionych od drogi na obecność grzybów podziemnych w diecie gryzoni. Brakuje tutaj jednak informacji, że dotyczy to tylko jednej lokalizacji - Spały.

Należy także zastanowić się, czy różnice w wyborze miejsc połowu gryzoni pomiędzy lokalizacjami miały wpływ na otrzymane wyniki. Na przykład lokalizacja pułapek przy drodze wpłynęła na częstsze występowanie zarodników grzybów podziemnych w diecie gryzoni?

Dyskusja

Przed wszystkim dyskusję, w przeciwieństwie do wstępu, powinno się pisać od szczegółu do ogółu.

W pierwszym zdaniu doktorantka pisze, że wyniki tych badań pokazują zależność pomiędzy zjadaniem przez gryzonie grzybów podziemnych, a ich dostępnością w terenie i obecnością innych źródeł pokarmu. Ale przecież nie prowadziła ona badań nad dostępnością grzybów

podziemnych i innych zasobów pokarmowych gryzoni na terenach badań. Dlatego ten zapis jest zupełnie nieuprawniony.

Nie ma niestety w literaturze jak dotąd żadnych danych potwierdzających, że zawartość zarodników grzybów podziemnych w diecie gryzoni odzwierciedla dostępność tych grzybów w środowisku. Co jest sugerowane na początku dyskusji.

Ponadto w rozdziale tym napisane jest, że na udział grzybów podziemnych w diecie gryzoni wpływa nie tylko ich dostępność (jest to sprzeczne z zapisem na początku rozdziału), lecz także dostępność innych źródeł pokarmu. To oczywiście prawda, pytanie więc dlaczego nie prowadzono analizy dostępnych źródeł pokarmu. Być może ta informacja pomogła by w interpretacji sezonowego i środowiskowego (Spała vs Konewka) zróżnicowania udziału grzybów podziemnych w diecie gryzoni.

Mysz wielkooka leśna zjada nasiona („seeds” a nie „grain”) i w przeciwieństwie do nornicy nie zjada zielonych części roślin.

Poprawność języka – choć praca napisana jest w języku angielskim to niestety zawiera bardzo liczne błędy gramatyczne i stylistyczne, dlatego nie będę ich tutaj wymieniał. Moim zdaniem przed przyszłą publikacją praca wymaga gruntownej korekty językowej.

Błędna terminologia

Jest “Forest Inspectorate – powinno być “Forest Directorate” (str. 9) (nadleśnictwo)

Jest “clearing” – powinno być “clear-cut” (str. 10) (zrąb)

Jest “tree nursery” – powinno być “forest plantation” (str. 10) (uprawa leśna)

Brakuje dokończenia (str. 75) „.....hypogeous fungi dominated over those epigeous in fecal samples.” – fecal samples of what?

Mysz wielkooka leśna (*Apodemus flavicollis*) to nie jest “myszarka leśna” (str. 83, 84, 85) lub „muszarka” (str. 84) należy stosować właściwą terminologię systematyczną.

Brak literatury:

Schickmann et al. 2012 (str. 8, 70)

(Kasprzak, Niedbała after Czachorowski 2006) (str. 23)

Wniosek końcowy

Chciałbym podkreślić, iż wyżej wymienione niedociągnięcia i wątpliwości nie umniejszają wartości naukowej rozprawy i są w dużej części dyskusją otrzymanych wyników.

Podsumowując stwierdzam, iż przedłożona przez mgr Małgorzatę Połatyńską rozprawa doktorska zatytułowana „**Seasonal differentiation of hypogeous fungi in rodent diet in selected forest reserves of Central Poland**” (Sezonowe zróżnicowanie grzybów podziemnych w diecie gryzoni w wybranych rezerwach leśnych Polski Środkowej) jest oryginalnym i wnikliwym studium analizującym zależności troficzne zachodzące pomiędzy grzybami podziemnymi, a dwoma rodzimymi gatunkami gryzoni leśnych: nornicą rudą i myszą wielkooką leśną. Dodatkowo autorka dokonała identyfikacji zarodników grzybów podziemnych do gatunku lub rodzaju oraz wykonała ich analizę morfometryczną. Być może z

tekstu rozprawy nie wynika to wprost, ale doktoranta włożyła ogrom pracy w zebranie i przeanalizowanie danych.

Rozprawa w pełni spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim przez obowiązujące w Polsce prawo dotyczące stopni (Ustawa z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz Ustawa z dn. 18 marca 2011 r. o zmianie ustawy – Prawo o szkolnictwie wyższym, ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki). Wnioskuje do Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie Pani mgr Małgorzaty Połatyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Ekologii Lasu

dr hab. Zbigniew Borowski