



Dr hab. Agnieszka Gren, prof. UKEN
Katedra Fizjologii Zwierząt
Instytut Biologii i Nauk o Ziemi
Uniwersytet Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie
e-mail: agnieszka.gren@uken.krakow.pl

Kraków, 2024.12.10

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pana mgr. Michała Szkudlarka pt.:
„Zanieczyszczenia mikroplastikiem płazów (Amphibia) w Polsce Zachodniej”
wykonanej w Instytucie Nauk Biologicznych Uniwersytetu Zielonogórskiego
pod opieką naukową dr hab. Bartłomieja Najbara, prof. UZ.

Podstawa formalno-prawna wykonania recenzji

Ocenę rozprawy doktorskiej Pana mgr. Michała Szkudlarka wykonałam w oparciu o pismo z dnia 10 października 2024 roku, skierowane do mnie przez Dyrektora Instytutu Nauk Biologicznych Uniwersytetu Zielonogórskiego Prof. dr hab. Leszka Jerzaka, zawierające prośbę o wykonanie recenzji w/w Rozprawy.

Problem naukowy i znaczenie badań

Badania prezentowane w ocenianej rozprawie doktorskiej dotyczą oceny zanieczyszczenia mikroplastikiem larw płazów oraz ich siedlisk zlokalizowanych w województwie lubuskim.

Dynamiczny wzrost produkcji tworzyw sztucznych od lat pięćdziesiątych XX wieku i zwiększenie skali zastosowania wyrobów z nich produkowanych, doprowadziły do zwiększenia ilości odpadów tego surowca. Plastik stanowi najczęstszy rodzaj powstających w wyniku działalności człowieka odpadów, a co za tym idzie wzrosło ryzyko ich niewłaściwego zagospodarowania, a przede wszystkim negatywnego oddziaływania na środowisko. Olbrzymie ilości plastiku trafiają do gleb, rzek i oceanów, a przewiduje się, że do 2060 roku, ta ilość wzrośnie dwukrotnie. Stwierdzono, że jednym z najbardziej problematycznych zanieczyszczeń środowiska są najmniejsze frakcje plastiku, tj. mikro- i nanoplastik. Powstają one np. w wyniku rozpadu większych fragmentów takich jak np. sieci rybackie, torby foliowe, butelki PET oraz na skutek mechanicznego zużywania materiałów, np. w trakcie ścierania opon czy prania tekstyliów (mikroplastik wtórny). Plastikowe mikrocząstki mogą być też bezpośrednio dodawane do produktów takich jak kosmetyki (mikroplastik pierwotny). Negatywny wpływ zaśmiecania środowiska na organizmy został wielokrotnie udokumentowany w literaturze naukowej. Dowiedziono m.in., że nanoplastik potrafi przenikać przez błony komórkowe, a jego kumulacja w organizmie może prowadzić do wielu negatywnych efektów wynikających z zaburzeń homeostazy, choć skali tego zjawiska, ze względu na jego dynamikę, jeszcze do końca nie określono.



W ostatnich latach wzrosła intensywność badań dotyczących obecności i charakterystyki mikroplastiku w ekosystemach wodnych (w tym ich poszczególnych składowych takich jak osad, woda i organizmy). Tworzone są modele, które opisują przestrzenną i czasową zmienność tych zanieczyszczeń, uwzględniając także udział w tym organizmów. Intensywnie rozwija się także metodologia ekotoksykologicznych badań mikroplastiku. W tym kontekście, podjęte przez Doktoranta badania są aktualne, ważne i znaczące przede wszystkim w aspekcie poznawczym, prowadzącym do wskazania zależności między działalnością człowieka a zanieczyszczeniem mikroplastikiem ekosystemów słodkowodnych i zamieszkujących je stadiów larwalnych płazów, dróg przenoszenia tego polutanta, jak i praktycznym, wskazującym na potrzebę opracowania nowych strategii ochrony środowiska, które będą uwzględniać zanieczyszczenie siedlisk mikroplastikiem. Zaśmiecanie środowiska jest współcześnie, w skali globalnej, jednym z największych wyzwań środowiskowych.

Ogólna charakterystyka Rozprawy i ocena merytoryczna

Rozprawa doktorska Pana mgr Michała Szkudlarka została przygotowana w postaci klasycznej monografii naukowej, napisana poprawnie w języku polskim. Rozprawa liczy 122 strony, jest podzielona na następujące rozdziały - typowe dla tego rodzaju opracowań: 1.Streszczenie str. 1-3; 2.Summary str. 4-6; 3.Wykaz skrótów stosowanych w rozprawie str. 7-8; 4.Wstęp str. 9-17; 5.Cele str. 18; 6.Materiały i metody str. 19-49; 7.Wyniki str. 50-78; 8.Dyskusja str. 79-88; 9.Podsumowanie str. 89-90; 10.Wnioski str. 91; 11.Bibliografia str. 92-106; 12.Załączniki str. 107-122.

Wstęp jest bardzo syntetyczny. Autor w oparciu o studium literatury wprowadza czytelnika w zagadnienia związane z podjętą tematyką badawczą. Czytelnik zapoznaje się z treściami dotyczącymi plastiku i mikroplastiku w kontekście ich roli jako zanieczyszczeń środowiska. Za główne źródło zanieczyszczenia środowiska mikroplastikiem uznaje się plastikowe odpady (np. produkty codziennego użytku), które w wyniku działania czynników biotycznych i abiotycznych ulegają fragmentacji dając w ten sposób początek tzw. mikroplastikowi wtórnemu. Innymi istotnymi źródłami zanieczyszczenia MP są ścieki komunalne i przemysłowe. Ta klasa polutantów dotyka szczególnie środowiska wodne, gdzie ma miejsce ich akumulacja. Pan mgr Michał Szkudlark opisuje wpływ mikroplastiku na procesy fizjologiczne przebiegające w organizmach zwierząt. Jednoznacznie stwierdza, że stopień akumulacji mikroplastiku w środowisku i w organizmach jest ważnym parametrem z punktu widzenia oceny ryzyka zagrożeń ze strony tych zanieczyszczeń. W tym rozdziale Doktorant, krótko opisuje składniki stale związane ze strukturą polimeru np. bisfenol A (BPA), który wykorzystywany jest jako monomer do produkcji tworzyw sztucznych, głównie poliwęglanów i żywic epoksydowych, a także dodatki modyfikujące nie będące na stałe związane ze strukturą polimeru (tzn. stopniowo wymywane), jak ftalany czy bromowane opóźniacze spalania. Autor wskazuje na ich zdolności do wywoływania zaburzeń funkcjonowania układu endokrynnego, wzrostu, metabolizmu i rozrodczości oraz ich działanie genotoksyczne, rakotwórcze i neurotoksyczne.

W kolejnym podrozdziale przedstawia typologię mikroplastików ze względu na pochodzenie, skład chemiczny (typ polimeru), wielkość drobin, ich kształt, kolor, a następny podrozdział to opis nowego rodzaju biocenozy tj. plastisfery, jej wykorzystania przez organizmy, bioakumulację i wpływu na te organizmy m.in. produktów degradacji plastiku. Doktorant zwrócił uwagę na niewielką liczbę badań, a co za tym idzie publikacji dotyczących związku mikroplastiku z fizjologią płazów, wskazując na zasadność prowadzenia dalszych badań na tym polu.



Podsumowując uważam, że rozdział „Wstęp” został dobrze przygotowany. Podoba mi się jego zwięzłość, cytowana literatura, na pewno inspiruje czytelnika do poszerzenia wiedzy na ten interesujący temat. Uważam, że Autor w omawianym rozdziale mógł wprowadzić schematy/rysunki, które ułatwiłyby czytelnikowi lepsze zrozumienie opisywanych procesów czy mechanizmów. Sugeruję także, że zamieszczone ryciny 1 i 2 powinny w podpisie zawierać dodatkowe informacje: kto je wykonał, gdzie (jest tylko napisane „na obszarze badań”) i datę ich wykonania. Ale te drobne sugestie nie umniejszają wartości tej części dysertacji.

Po przeczytaniu tego rozdziału, proszę Doktoranta o komentarz dotyczący stwierdzenia, że: *„Wody słone są lepiej przebadane pod względem zanieczyszczenia mikroplastikiem niż wody słodkie”* (str. 16). Dlaczego?

W kontekście przedstawionych danych literaturowych dotyczących negatywnego wpływu MP na organizmy zwierząt, p. mgr M. Szkudlarek w rozdziale 5. „Cele” najpierw przedstawia cel badań czyli zbadanie zanieczyszczenia mikroplastikiem larw płazów, wody i osadów dennych pozyskanych na stanowiskach w zachodniej Polsce, kolejno formułuje 7 hipotez badawczych. Cel badań został prawidłowo sformułowany, a następnie zrealizowany.

Rozdziale 6. „Materiał i metody” jest rozbudowany i podzielony na 5 podrozdziałów, te z kolei na podpodrozdziały. W podrozdziale 6.1. Autor opisuje teren badań (pod kątem jego ukształtowania, podłoża, regionalizacji tektonicznej, klimatu, temperatury, opadów, wiatrów) a więc obszar województwa lubuskiego, które znajduje się w środku przewężenia wielkiego Nizżu Europejskiego, w zachodniej Polsce. *Czy zatem tytuł dysertacji nie powinien być sformułowany: „Zanieczyszczenia mikroplastikiem płazów (Amphibia) w województwie lubuskim”?* (co zresztą zostało zaakcentowane w podrozdziale 8.10. „Ograniczenia i perspektywy”). Jako teren badań wybrano 23 stanowiska badawcze, które obejmowały zarówno miejsca dzikie, niezanieczyszczone i oddalone od jakichkolwiek budynków, jak i stanowiska silnie zaśmiecone z widocznymi plastikowymi odpadami różnego pochodzenia. Za pomocą odbiornika GPS odnotowano dokładną lokalizację każdego ze stanowisk, co wykorzystano do przeprowadzania analiz przestrzennych z zastosowaniem buforów o promieniu 1 km. Doktorant bardzo dokładnie opisał każde stanowisko.

W kolejnym podrozdziale, tj. 6.2. „Pobór prób”, Doktorant szczegółowo, w formie tabel przedstawia informacje na temat stanowisk, liczby zebranych larw płazów oraz ich gatunków. Taka forma przedstawienia danych jest bardzo czytelna dla Recenzenta i zasługuje na pochwałę. Również charakterystyka gatunków znalezionych larw jest atutem pracy. Larwy płazów są dobrym modelem do badań ekotoksykologicznych.

Następnie, po zapoznaniu Czytelnika ze materiałem zwierzęcym, Autor opisuje sposoby poboru wody oraz osadów dennych, a w kolejnych podrozdziałach przechodzi do opisu metodyki. Ta część rozprawy jest bardzo szczegółowa, procedury/metody badań dokładnie opisane, co sugeruje praktyczne zaangażowanie Autora w wykonywanie żmudnych i wymagających doświadczenia, cierpliwości i wprawnej ręki metod badawczych. Wszystkie zastosowane metody są różnorodne, standardowo wykorzystywane w tego typu badaniach naukowych i nowoczesne. Sądzę, że po przeczytaniu wszystkich podrozdziałów tego rozdziału, bez problemu, mając podstawowe zdolności manualne, techniczne i wiedzę w tej tematyce, można powtórzyć całe analizy. Na pochwałę zasługuje olbrzymia liczba pobranych próbek, wskazująca na ogrom pracy wykonanej przez Doktoranta. Ponadto, zwracam uwagę na to, że badania przeprowadzone



zostały z zastosowaniem praktyk mających na celu minimalizację możliwości zanieczyszczenia krzyżowego obcym mikroplastikiem. Podsumowując: wybór obiektów badań, stosowanych metod, wskaźników, specjalistycznego oprogramowania jest uzasadniony i umożliwia weryfikację hipotez badawczych. Często poważnym ograniczeniem wielu prac prezentujących kumulację MP w organizmach i starających się wskazać ich możliwe źródła jest brak odniesień do odpowiednich danych o jego zawartości w środowisku czy pokarmie. Prowadzi to czasem do ogólnikowych spekulacji. Doktorant poprzez badanie np. wody czy osadów dennych uniknął tego. Dodatkowo w swoich badaniach brał również pod uwagę potencjalną zmienność między stanowiskami i między gatunkami w obrębie tych stanowisk. Wyniki zostały poddane bardzo wnikliwej, szczegółowo opisanej i prawidłowo dobranej analizie statystycznej.

Proszę aby Doktorant ustosunkował się do poniższych pytań:

1. Na stronie 19: „*Poddawano je bardzo częstym kontrolom*” – Jak częstym?
2. Na stronie 20: „*Dzięki regularnym kontrolom, możliwe było zebranie prób wody oraz osadu dennego zanim nastąpiło całkowite wyschnięcie akwenu oraz martwych (zazwyczaj wysuszonych) larw płazów. Zwykle nie były to wszystkie osobniki, gdyż część z powodzeniem kończyła metamorfozę przed wyschnięciem zbiornika, a część padała ofiarą drapieżników*” – Jaki procent, według Doktoranta, stanowiły martwe larwy w stosunku do tych, które osiągnęły dojrzałość i/lub padły ofiarą drapieżników?
3. Z czego wynika różnica między podaną liczbą larw-934 w Tab.1 (str.32), a liczbą podaną w tabeli 2 (str.33) -914.

Kolejny rozdział rozprawy doktorskiej – „Wyniki”, został podzielony na podrozdziały, które ułatwiają czytelnikowi zaznajomienie się z uzyskanymi wynikami badań. Rozdział ten jest bardzo szczegółowy, logiczny, klarowny, wzbogacony czytelnymi rycinami (15) i tabelami (19).

Po przeczytaniu tego rozdziału, proszę Doktoranta o komentarz/interpretację:

1. Dlaczego kijanki ropuch wykazywały najwyższy, a larwy traszek najniższy poziom zanieczyszczenia mikroplastikiem?
2. Czy uważa Pan, że istnieją u zwierząt preferencje pochłaniania (wraz z pokarmem) mikroplastiku odnoszące się do jego kształtu i/lub koloru?

W rozdziale 8. „Dyskusja”, Autor z powodzeniem, dojrzałością i wnikliwością doświadczonego naukowca, omawia oraz interpretuje uzyskane wyniki badań własnych, odnosi je do hipotez badawczych i zestawia z wynikami badań innych autorów. Ta część dysertacji na pewno stała się odpowiedzią na pytania, które zadał sobie Doktorant przed przystąpieniem do badań naukowych. Pan mgr M. Szkudlarek stwierdza, że zanieczyszczenie organizmów wodnych bywa bardzo mocno zróżnicowane i zależy od metod, czasu pobierania prób, regionu, rodzaju i stanu siedlisk, w których one bytują. Wykazuje, że istnieją różnice między rodzinami płazów, odnoszące się zarówno do ich stopnia obciążenia mikroplastikiem, jak i zróżnicowania kształtu drobin MP wyrażonego poprzez wskaźnik Levina. Autor nie notuje korelacji między rozmiarem larw płazów, a stopniem ich obciążenia mikroplastikiem, natomiast, jak można było się spodziewać, w wyniku badań wykazano dodatnią korelację między antropopresją (wyrażoną poprzez udział powierzchni zurbanizowanej wokół miejsc poboru prób) a obciążeniem



mikroplastikiem larw płazów. Najczęściej stwierdzonym przez Doktoranta kształtem MP w larwach płazów oraz w osadach dennych było włókno, które, jak w kolejnych częściach dyskusji stwierdza Autor, dłużej niż te o innych kształtach przebywa w organizmach zwierząt, stąd może to skutkować poważniejszymi zaburzeniami zdrowotnymi. Na plus należą zaliczyć wskazówki Autora, dotyczące uwzględnienia różnych zmiennych, przy planowaniu oraz interpretacji wyników podobnych badań w przyszłości. Doktorant stwierdza, że na intensywność fragmentacji (rozdrabniania) mikroplastików wpływają nie tylko ich parametry morfologiczne, ale także skład chemiczny i kolor drobin. Niezwykle istotnymi czynnikami są również warunki środowiskowe, takie jak: fluktuacje temperatury, ekspozycja na światło słoneczne, stres mechaniczny oraz czynniki biologiczne. Co więcej, interpretując wyniki pomiarów długości i pola powierzchni mikroplastików wyekstrahowanych z larw płazów, warto mieć na uwadze możliwość ulegania przez nie rozdrobnieniu podczas przechodzenia przez układ pokarmowy. Na podkreślenie zasługują dwa ostatnie podrozdziały dyskusji, tj. 8.9 „Podobieństwa w profilach zanieczyszczenia mikroplastikiem larw płazów, wód i osadów dennych” oraz 8.10. „Ograniczenia i perspektywy”, które uznaję za podsumowanie tej części dysertacji. Pan mgr Michał Szkudlarek, stwierdza, że jego badania wykazały podobieństwa w obrębie tego samego stanowiska – pod względem kształtów i kolorów mikroplastików wyekstrahowanych z larw płazów oraz wód. Prawidłowości te dla porównań larwy-osad, choć obecne, były słabiej zaznaczone. Doktorant krytycznie podchodzi również do wyników badań własnych. W wielu miejscach rozprawy doktorskiej wskazuje na konieczność weryfikacji zbyt daleko idących interpretacji, co wskazuje na jego świadomość i dojrzałość naukową, np. *„Brak zaobserwowanych przeze mnie (choć oczekiwanych) podobieństw w obrębie stanowiska pod kątem składu chemicznego mikroplastików wyekstrahowanych z larw płazów, wód oraz osadów dennych, jest zastanawiający i skłania do dalszych, dogłębnych badań. Być może ten brak podobieństw wynika z faktu, że badania te objęły jedynie wodę pobraną tuż przy powierzchni lustra wody (niekiedy resztki wody), której profil prawdopodobnie nadreprezentuje mikroplastiki złożone z mniej gęstych polimerów, w przeciwieństwie do profilu głębszych warstw wód, z których kijanki być może pobierają większość mikroplastików”* (str. 87). Doktorant w badanych próbkach mikroplastików, wśród syntetycznych polimerów, najczęściej ekstrahował z larw płazów polietylen, polipropylen oraz poli(etylen-propylen-dien)-EPDN. O ile dwa pierwsze polimery są dobrze udokumentowane jako zanieczyszczenia powszechnie znajdowane w wodach śródlądowych, a także w kijankach, to niewątpliwie warta uwagi jest obecność EPDN. Obecność tego związku Autor wykazał w 22% identyfikowanych syntetycznych polimerów spośród przebadanych mikroplastików. Według dostępnych danych literaturowych, nie był on dotychczas odnotowywany wśród MP wyekstrahowanych z płazów, choć był stwierdzany w próbach wody.

Odnosząc się do tej części dysertacji proszę o komentarz do stwierdzenia :

„Wyższe zanieczyszczenie kijanek ropuch w stosunku do kijanek żab (Ranidae) może wynikać także z wyższej śmiertelności tych drugich w wodach zanieczyszczonych mikroplastikiem” (str. 79/80).

Rozdział 9 jest syntetycznym podsumowaniem przeprowadzonych analiz. Z kolei w końcowej części dysertacji Doktorant formułuje 8 wniosków, które podsumowują uzyskane wyniki badań. Uważam, że podjęcie próby przedstawienia mechanizmów stwierdzonych efektów analiz wzbogaciłoby tę część rozprawy.




W rozdziale 11. Bibliografia, Autor cytuje 196 anglojęzycznych pozycji literatury. Wśród innych, cytowane są także publikacje z 2023 (42), a nawet 2024 roku (6), przedstawiają więc najnowszy i najbardziej aktualny stan wiedzy na zawarty w rozprawie doktorskiej temat. Cytowana literatura jest ściśle związana z tematem ocenianej dysertacji.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Stwierdzam, że Pan mgr Michał Szkudlarek w całości zrealizował zadania badawcze. Zakres przeprowadzonych analiz, wybór metod badawczych umożliwiły uzyskanie nowych i bardzo interesujących wyników. Podjęta tematyka jest bardzo aktualna, może stać się jednym z kierunków „polityki ochrony środowiska”, ponieważ wszystkie prezentowane wyniki badań zarówno prowadzonych przez Pana mgr M. Szkudlarkę jak i innych autorów, z którymi konfrontował swoje analizy wskazują na bardzo niepokojący fakt powszechnego zanieczyszczenia mikroplastikiem herpetofauny i jej siedlisk na skalę globalną. Ponadto, uzyskane przez Doktoranta wyniki mogą stać się inspiracją do kontynuacji oraz rozszerzenia badań w kierunku dalszego poznania kompleksowego wpływu wszechobecnego zanieczyszczenia mikroplastikiem na ekosystemy słodkowodne ze szczególnym uwzględnieniem np. troficznych jak i niotroficznych interakcji międzygatunkowych wpływających na przestrzenną dynamikę zanieczyszczeń w tych ekosystemach.

Doktorant ma umiejętność jasnego, syntetycznego, precyzyjnego, zrozumiałego dla czytelnika formułowania myśli, co wskazuje na jego dojrzałość naukową. Świadczy też o bardzo dobrym przygotowaniu Doktoranta do prowadzenia badań naukowych na wysokim poziomie. Rozprawa jest znaczącym osiągnięciem Doktoranta.

W konkluzji, jednoznacznie twierdzę, że prowadzone badania stanowią rozwiązanie oryginalnego problemu naukowego założonego w celu badań, a przedłożona mi do oceny dysertacja pt. „Zanieczyszczenia mikroplastikiem płazów (Amphibia) w Polsce Zachodniej” jest nowatorska, wartościowa i spełnia wszystkie wymogi określone w art. 13 ust.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2017 r., poz. 1789 z późn. zm.). W związku z powyższym przekładam wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pana mgr. Michała Szkudlarkę do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. Agnieszka Greń, prof. UKEN