

dr hab. Barbara Urban-Malinga, prof. MIR-PIB

Morski Instytut Rybacki – Państwowy Instytut Badawczy

ul. Kołłątaja 1

81-332 Gdynia

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

PANI MGR JUSTYNY MARII ŚWIEŻAK

WPŁYW POTENCJALNEGO WYCIEKU CO<sub>2</sub> Z PODMORSKIEGO SKŁADOWISKA W  
POŁUDNIOWYM BAŁTYKU NA ROGOWCA BAŁTYCKIEGO *LIMECOLA BALTHICA* W  
WARUNKACH ZWIĘKSZONEGO CIŚNIENIA HYDROSTATYCZNEGO

zrealizowanej w Zakładzie Funkcjonowania Ekosystemów Morskich Instytutu Oceanografii  
Uniwersytetu Gdańskiego

pod kierunkiem dr hab. Adama Sokołowskiego, prof. UG

### Wartość naukowa rozprawy

Celem badawczym przedłożonej mi do recenzji rozprawy doktorskiej Pani mgr Justyny Świeżak jest ocena wpływu zakwaszenia wody dwutlenkiem węgla na rogowca bałtyckiego *Limecola balthica* w warunkach podwyższonego ciśnienia hydrostatycznego. Badania będące przedmiotem rozprawy podjęte zostały w obliczu ryzyka środowiskowego związanego z potencjalnym wyciekami CO<sub>2</sub> z podmorskiego składowiska, którego prognozowana lokalizacja to pole ropy naftowej i gazu ziemnego B3 w Polskiej Wyłącznej Strefie Ekonomicznej. Technologia sekwestracji CO<sub>2</sub> w składowiskach pod dnem morskim uznawana za skuteczną metodę ograniczania emisji tego gazu, jest uważana za bezpieczną. Jednak, ciągle nieznane pozostają konsekwencje potencjalnego wycieku CO<sub>2</sub> ze składowiska do wód porowych i wody naddennej. Zagrożenia związane z tym zjawiskiem były przedmiotem badań eksperymentalnych przeprowadzonych w wielu rejonach świata, jednak ich wyniki trudno jest bezpośrednio odnieść do specyficznych warunków południowego Bałtyku. Ponadto, uzyskane do tej pory wyniki jasno wskazują na to, że wpływ zakwaszenia wody dwutlenkiem węgla na organizmy jest silnie zróżnicowany w zależności od gatunku, cech biologicznych, osobniczych i parametrów fizjologicznych testowanych organizmów, oraz parametrów ekspozycji organizmów na zakwaszenie.

Mając powyższe fakty na uwadze, Doktorantka podjęła się zadania oceny wpływu potencjalnego wycieku dwutlenku węgla i związanego z nim zakwaszenia wody na rogowca

bałtyckiego *Limecola balthica*, który jest jednym z kluczowych przedstawicieli bałtyckiego zoobentosu. U podstaw badań będących przedmiotem rozprawy doktorskiej Pani mgr Justyny Świeżak leży założenie, że potencjalny wyciek CO<sub>2</sub> z podmorskiego składowiska i związane z nim obniżenie pH wody w warunkach niskiego zasolenia, eutrofizacji i okresowych deficytów tlenowych typowych dla Bałtyku Południowego, mogą stanowić dodatkowy czynnik stresowy dla fauny bentosowej, w szczególności fauny wytwarzającej zewnętrzny szkielet wapienny. Ponadto, efekt stresowy potęgować może zwiększona rozpuszczalność CO<sub>2</sub> przy podwyższonym ciśnieniu hydrostatycznym i niskim zasoleniu.

W mojej opinii, o oryginalności podjętych przez Doktorantkę badań świadczą (i) podjęcie niezwykle ważnego ale wciąż słabo poznanego zagadnienia konsekwencji środowiskowych składowania CO<sub>2</sub> pod dnem morskim i planowanego wprowadzenia tej technologii na południowym Bałtyku, (ii) przeprowadzenie unikalnego eksperymentu w trzech różnych wariantach pH i w warunkach podwyższonego ciśnienia hydrostatycznego (dzięki zastosowaniu komory hiperbarycznej) o wartościach odpowiadających wartościom prognozowanym dla miejsca potencjalnego wycieku CO<sub>2</sub> z planowanego składowiska w południowym Bałtyku, (iii) ocena odpowiedzi biologicznej *L. balthica* poprzez przeprowadzenie kompleksowych analiz na różnych poziomach organizacji biologicznej (przeżywalność, morfometryczne wskaźniki kondycji, przyrost muszli, zachowanie, zużycie materiałów zapasowych, a także zmiany na poziomie komórkowym: aktywność enzymów szlaku oddechowego, enzymów antyoksydacyjnych, aktywność neurotransmitera acetylocholinesterazy i zmiany histopatologiczne).

### **Wartość merytoryczna rozprawy**

Wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej Pani mgr Justyny Świeżak oceniam bardzo wysoko. We Wstępie Doktorantka wyczerpująco przedstawia problem wzrostu emisji CO<sub>2</sub> do atmosfery, omawia metody redukcji tej emisji i technologie sekwestracji CO<sub>2</sub>, oraz perspektywy rozwoju tej technologii na obszarze południowego Bałtyku. Autorka przedstawia stan wiedzy na temat możliwych zagrożeń i środowiskowych konsekwencji stosowania technologii składowania CO<sub>2</sub> pod dnem morskim. Umiejętnie i krytycznie omawia dotychczasowe wyniki i definiuje obszary, gdzie wiedza jest niewystarczająca i konieczne są dalsze badania. W ten sposób Doktorantka umiejętnie wprowadza w tematykę swoich badań, przekonująco uzasadnia ich podjęcie, a następnie trafnie, jasno i precyzyjnie formułuje ich cel. Metody są dobrane adekwatnie do celów i są wyczerpująco opisane. Doktorantka wykazała się inwencją jeśli chodzi o dobór szerokiej palety markerów biologicznych. Wyniki są poddane szczegółowej analizie statystycznej (do której kilka uwag krytycznych zawarłam w pkt. 4) i są prawidłowo przedstawione, a następnie krytycznie omówione i przeanalizowane w Dyskusji. Dyskusja jest poprowadzona bardzo interesująco, a analiza i omówienie uzyskanych wyników na tle dostępnej literatury nacechowane są wnikliwością i precyzją. Dyskusja i Wstęp są szczególnie dopracowane, przemyślane i bardzo

inspirujące, a ich lektura stanowi niewątpliwą przyjemność. Literatura, na którą powołuje się Doktorantka jest dobrze dobrana i wyczerpująca. Na zakończenie Dyskusji Doktorantka przedstawia siedem głównych wniosków ze swoich badań, które są spójne z postawionym celami pracy oraz uzyskanymi wynikami.

### **Układ rozprawy**

Rozprawa doktorska Pani mgr Justyny Świeżak napisana jest w języku angielskim. Układ jest rozprawy jest standardowy. Liczącą niemal 200 stron pracę rozpoczynają streszczenia napisane odpowiednio w języku angielskim i w języku polskim. Po nich następuje 21-stronicowy Wstęp oraz rozdział metodyczny, który liczy 25 stron. Oba rozdziały są zilustrowane zdjęciami, oraz dobrej jakości rycinami. Najbardziej obszerny, 70-stronicowy opis wyników pracy opatrzony jest 21 czytelnymi tabelami, 42 wykresami i jedną ryciną z dobrej jakości zdjęciami zmian histopatologicznych. Dyskusja uzyskanych wyników liczy 25 stron. Doktorantka powołuje się w sumie na 340 pozycji literatury. Rozprawa jest napisana poprawnym i starannym językiem oraz stylem.

### **Uwagi i kwestie dyskusyjne**

1. Czy osady umieszczone w pojemnikach ekspozycyjnych były uprzednio pozbawione makrofauny (np. przesiane przez sito o wielkości oczka 1 mm) ? Nie wynika to z opisu metody znajdującego się na str. 39 ani też z opisu metody pobierania osadów z Zatoki Gdańskiej i dalszego postępowania do momentu umieszczenia ich w pojemnikach ekspozycyjnych. Tymczasem obecność innych bioturbatorów (np. wieloszczetów) w niektórych pojemnikach ekspozycyjnych mogła wpływać na przebieg procesów fizykochemicznych w strefie porowej osadu, na proces dekompozycji materii organicznej, aktywność bakterii i ich produkcję, a tym samym na mierzony potencjał oksydacyjno-redukcyjny i procesy wymiany w strefie kontaktu woda-osad. Przesianie osadu przez sito skutecznie pozbawiłoby osady makrozoobentosu, choć oczywiście naruszyłoby strukturę osadu. Jednak taka swoista homogenizacja mogłaby zapewnić jednorodne parametry 'wyjściowe' osadów, które, jak wynika z opisu, charakteryzowała silna stratyfikacja. Czy Doktorantka brała pod uwagę tego typu podejście ?
2. W opisie zastosowanych metod brakuje informacji o typie osadu wykorzystanego w eksperymencie. Dopiero z dalszych fragmentów rozprawy dowiadujemy się, że najprawdopodobniej był to osad o drobnym uziarnieniu, bogaty w materię organiczną. Typ osadu, jego uziarnienie i związana z nim objętość systemu porowego mają istotny wpływ na rozmieszczenie drobnych bezkręgowców zamieszkujących tą strefę (np. mejofauny), głębokość strefy natlenienia, tempo mineralizacji materii organicznej i procesy wymiany w strefie kontaktu woda-osad. Dlatego też sądzę, że

szczegółowa informacja o typie osadu i jego uziarnieniu powinna się pojawić w opisie metodycznym, oraz w publikacjach, które powstaną na bazie rozprawy.

3. Różnice pomiędzy wynikami uzyskanymi przy różnych wartościach zadanego pH testowano w głównej mierze przy pomocy testów nieparametrycznych, gdyż dane w większości przypadków nie spełniały założeń koniecznych do przeprowadzenia testów parametrycznych. Doktorantka słusznie korzystała z analizy wariancji Kruskala-Wallisa (K-W ANOVA) do testowania różnic pomiędzy wieloma grupami danych, oraz z testu U Manna-Whitneya (U M-W) w przypadku porównań dwu grup. Ponadto, test U M-W Doktorantka wykorzystywała do przeprowadzenia testów porównań wielokrotnych, w przypadku stwierdzenia istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami danych w wyniku testu K-W ANOVA. Tak więc, test U M-W stosowany był do porównywania par danych (do przeprowadzenia testu rang parami) poddanych wcześniej testowi K-W ANOVA i tym samym jako tzw. test post-hoc. Czy jest to jednak uprawniona procedura w tym przypadku ? Bo czy rangi używane do testowania sum rang parami przez test U M-W są tożsame z rangami tworzonymi przez test K-W ANOVA ? Czy w takim przypadku, wyniki testów U M-W nie powinny być opatrzone poprawką uwzględniającą błąd i korzystać z poprawionej wartości 'p' ? O ile testowanie przy pomocy M-W U jest uprawnione w przypadku porównywania parami wyników różnych ekspozycji na różne pH, gdyż *de facto* były to odrębne eksperymenty, o tyle porównywanie wyników w ramach tego samego eksperymentu (np. analizy zmian zawartości białek, glikogenu i węglowodanów czy wskaźników morfometrycznych w czasie trwania różnych eksperymentów (ekspozycje na różne pH)) przy pomocy tego testu wydaje mi się już mniej uprawnione gdyż ich wartości w poszczególnych okresach eksperymentu nie były względem siebie niezależne. Czy nie lepiej byłoby w tym przypadku zastosować np. PERMANOVA ?

Niejasne jest dlaczego Doktorantka nie skorzystała z możliwości przeprowadzenia testu porównań wielokrotnych, tzw. dwustronnych, dostępnych jako procedura post-hoc dla testu K-W ANOVA.

Podobnie, analiza statystyczna różnic w pionowym rozmieszczeniu małży w osadzie (w głębokości zagrzebywania) została przeprowadzona przy pomocy K- W ANOVA, a następnie porównania par przeprowadzono przy pomocy testu U M-W. Wydaje mi się, że głębokości występowania małży w osadzie w danym pojemniku nie były względem siebie niezależne i ten fakt należałoby uwzględnić w analizie. Idealnym narzędziem do przeprowadzenia takiej analizy byłaby PERMANOVA z testami post hoc.

4. Pomiaru głębokości zagrzebania małży w osadzie wykonane zostały z dużą dokładnością, tj. do 1 mm. Zostały one przeprowadzone na podstawie pomiaru linijką odległości pomiędzy górną krawędzią muszli a powierzchnią osadu. Różnica pomiędzy różnymi ekspozycjami była niewielka (24.5 i 24.0 mm odpowiednio w kontroli i najniższym pH i 26.4 mm przy średnim pH) co oznacza, że wszystkie małże zlokalizowane były w tej samej warstwie osady tj. 2-3 cm. Czy te drobne różnice nie

mogły wynikać z różnych rozmiarów małży wykorzystanych w eksperymencie i związanej z tym różnej długości syfonów ? Grubość warstwy osadu w każdym pojemniku wynosiła 4 cm (1 cm powierzchniowy i 3 cm po powierzchni). Z kolei, długość muszli małży wybranych do eksperymentu wahała się w zakresie 11.44-16.00 mm. Czy grubość warstwy osadu w pojemnikach nie mogła stanowić ograniczenie dla niektórych małży w ich pionowym przemieszczaniu ?

Drobne poprawki do tekstu:

Str. 10 – powtórzenie: „[...] obniżającym się zniżającym się [...]”

Str. 10 – błąd literowy: „[...] *Limeola* [...]”

Str. 23 – błąd literowy: „[...] meiofaunla [...]”

Str. 33 – w tekście jest napisane: „[...] sediments were collected [...] at one sampling site [...]”, podczas gdy podpis pod mapką brzmi: „Sampling sites [...]”

Str. 38 (podpis pod Ryc. 2.4) - powtórzenie: „[...] to to [...]”

Str. 39 (drugi akapit, 3 linijka) – błędy literowe: „[...] 3 m thick layer [...]”

Str. 61 - błędy literowe: „[...] sffect [...]”, „[...] physic-chemical [...]”,

Str. 61 – niejasne sformułowanie: „the test was not applied was intentionall in the pH-reduced treatments”

Str. 75 – brak spacji w opisie jednej z kolumn tabeli

Str. 77 – napisano „ Dissolved carbon dioxide is independent of total alkalinity [...]”, po czym następuje odniesienie do Tabeli 3.1.7. Czy na pewno jest to poprawne odniesienie ?

Str. 85 (5-6 linia od dołu strony) – błędy literowe

Str. 86 (podpis pod ryciną) – powtórzenie: „[...] of the of the [...]”

Str. 86 (pierwsza linijka akapitu) – powtórzenie: „Temporal changes [...] was [...]”

Str. 105 (nagłówek tabeli) - błąd literowy: „[...] compoouds [...]”

Str. 124 (trzecia linijka nad wykresem) - błąd literowy: „[...] graduallt [...]”

Str. 126 (4 linijka od góry) - błąd literowy: „[...] reamin [...]”

Str. 126 (2 akapit, 7 linijka) - błąd literowy: „[...] untill [...]” i 5 linijka od dołu: „[...] intil [...]”

Str. 127 (podpis pod ryciną): brak spacji – „[...]exposureperiod [...]”

Str 130 (7 linijka od dołu) - „[...] organisms exposed all pH treatments[...]”

- opis niektórych tabel (np. 3.1.2, 3.1.3, 3.1.6) prezentujących wyniki analiz statystycznych brzmi (np. Tab. 3.1.2): „Results of Kruskal-Wallis ANOVA analyses for testing the significance of exposure time on different [...] parameters [...]”. Myślę, że lepiej byłoby użyć sformułowania ‘for testing the effect of exposure time on different [...] parameters [...]’ lub „testing the differences...”. W przypadku sformułowania „testing the significance” myślę że lepiej je odnosić do „relationship” lub „correlation” czyli „testing the significance of the relationship/ correlation between ...”

## Podsumowanie

Wszystkie zamieszczone powyżej uwagi nie wpływają istotnie na wartość rozprawy, którą oceniam bardzo wysoko. Doktorantka podeszła oryginalnie do postawionego problemu badawczego, a wyniki Jej pracy mają dużą wartość poznawczą i poszerzają wiedzę na temat konsekwencji zakwaszenia wody dwutlenkiem węgla w warunkach podwyższonego ciśnienia hydrostatycznego. Materiał pozyskany w trakcie unikalnego eksperymentu zrealizowanego z wykorzystaniem komory hiperbarycznej został poddany przez Autorkę niezwykle wnikliwej analizie. Doktorantka wykazała się opanowaniem nadzwyczaj bogatego warsztatu analitycznego pozwalającego na przeprowadzenie kompleksowych badań na różnych poziomach organizacji biologicznej. W ciekawej i inspirującej dyskusji Doktorantka poddała uzyskane wyniki krytycznej ocenie na tle bogatej literatury, dając wyraz naukowej dojrzałości. Wnioski Doktorantki są spójne z postawionym celami pracy oraz wynikami przeprowadzonych badań. Pod względem naukowym rozprawa doktorska Pani mgr Justyny Świeżak zasługuje na bardzo wysoką ocenę. Wyniki uzyskane przez Doktorantkę stanowią niewątpliwie doskonały materiał do publikacji w wysoko punktowanych czasopiśmie.

## Wniosek końcowy

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani **MGR JUSTYNY MARII ŚWIEŻAK PT. WPŁYW POTENCJALNEGO WYCIEKU CO<sub>2</sub> Z PODMORSKIEGO SKŁADOWISKA W POŁUDNIOWYM BAŁTYKU NA ROGOWCA BAŁTYCKIEGO *LIMECOLA BALTHICA* W WARUNKACH ZWIĘKSZONEGO CIŚNIENIA HYDROSTATYCZNEGO** spełnia warunki, o których mówi artykuł 13 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. nr 65, poz. 595; ze zm. w Dz. U. z 2011 r. nr 84, poz. 455). Zwracam się zatem do Rady Naukowej Wydziału Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Pani **Mgr Justyny Marii Świeżak** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Barbara Urban-Malinga*

Barbara Urban-Malinga