

Dr hab. Barbara Urban-Malinga

Morski Instytut Rybacki – Państwowy Instytut Badawczy

ul. Kollątaja 1

81-332 Gdynia

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani Mgr Magdaleny Anny Jakubowskiej pt.**

**Wpływ zakwaszenia wody dwutlenkiem węgla na procesy fizjologiczne**

**bałtyckich bezkręgowców**

wykonanej w Zakładzie Ekologii Eksperymentalnej Organizmów Morskich

Instytutu Oceanografii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem

prof. UG, dr hab. Moniki Normant-Saremba

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska to cykl czterech spójnych tematycznie publikacji, których wspólnym celem jest ocena wpływu zakwaszenia wywołanego wzrostem stężenia dwutlenku węgla w wodzie na procesy fizjologiczne wybranych bałtyckich skorupiaków: *Saduria entomon* i *Gammarus oceanicus*, i małży: *Mytilus edulis trossulus*, oraz *Macoma balthica*. Cykl publikacji poprzedzony jest streszczeniem napisanym w języku angielskim i w języku polskim. Po każdym artykule następują oświadczenia współautorów mówiące o ich wkładzie w powstanie każdej z publikacji. Taki układ tekstu rozprawy jest przejrzysty i czytelny. Praca jest schludna i staranna od strony edytorskiej.

Mgr Jakubowska jest pierwszą autorką wszystkich publikacji wchodzących w skład cyklu. Z oświadczeń współautorów wynika, że wkład doktorantki wynosi odpowiednio 57 %, 70%, 80% i 80% - jest zatem zdecydowanie dominujący. Tylko jeden z artykułów wchodzących w skład cyklu publikacji jest wynikiem pracy 5 współautorów, którzy pomagali doktorantce przy zbiorze materiału do badań, przy wykonaniu części eksperymentalnej i wykonali pomiary pH - współautorzy ci pełnili zatem rolę głównie pomocniczą. Pozostałe 3 prace to publikacje autorstwa doktorantki i Jej pani promotor, która oświadcza, że Jej udział

obejmował opracowanie koncepcji badań i pomoc udzieloną doktorantce w pracach laboratoryjnych, oraz przy interpretacji wyników i redagowaniu artykułów.

Rozprawa doktorska mgr Jakubowskiej porusza problem badawczy, który znajduje się aktualnie w centrum zainteresowania biologów i ekologów morza. Zjawisko określane mianem zakwaszenia wody morskiej udokumentowane obserwacjami pochodzącymi z całego świata polega na stopniowym – obserwowanym na przestrzeni wielu lat – spadku alkaliczności wód oceanu. Zjawisko to spowodowane jest wchłanianiem z atmosfery dwutlenku węgla pochodzącego ze spalania paliw kopalnych i rozwoju ery przemysłowej na przestrzeni ostatnich 200 lat. Szacuje się, że globalna średnia wartość pH wód powierzchniowych oceanu spadła z poziomu 8.2 w epoce przedprzemysłowej do wartości 8.1 obecnie. Prognozy mówią, że w ciągu najbliższego stulecia osiągnięte zostaną wartości pH w zakresie 7.8-7.9.

Zmiany pH i składu węglanowego wody morskiej mogą silnie oddziaływać na organizmy. Badania tego oddziaływania prowadzone na świecie od około 2 dekad koncentrują się głównie na organizmach wytwarzających struktury zbudowane z węglanu wapnia takie jak: korale, małże, czy ślimaki szczególnie podatne na spadek alkaliczności wody. Tymczasem wahania pH zmuszają organizmy morskie do zużywania większych ilości energii potrzebnej na utrzymywanie właściwego składu chemicznego w komórkach, co w przypadku niektórych organizmów oznaczać może mniej energii jaka może zostać przeznaczona na inne procesy życiowe, takie jak wzrost, reprodukcja czy zdolność reagowania na bodźce ze środowiska. Zatem, spadek alkaliczności wody morskiej może potencjalnie wpływać na tempo wzrostu organizmów i wywoływać nieznane efekty fizjologiczne i metaboliczne. Wiedza na ten temat jest jednak ciągle fragmentaryczna i najczęściej ma charakter lokalny.

Prognozy mówią, o tym, że pH wód Bałtyku spadnie z wartości 8.07 do 7.91 tj. o 0.16 jednostki w ciągu 100 najbliższych lat. Niestety, ciągle bardzo mało wiadomo na temat potencjalnych konsekwencji tych zmian dla konkretnych organizmów, populacji, zespołów i całego ekosystemu. Dlatego też temat podjęty przez panią mgr Jakubowską w Jej rozprawie doktorskiej świetnie wpisuje się w bieżący nurt światowych badań nad konsekwencjami zjawiska zakwaszenia wody morskiej i ma ogromne znaczenie dla zrozumienia i ewentualnego przewidywania przyszłych scenariuszy zmian ekosystemu Bałtyku.

Doktorantka zbadła na drodze eksperymentalnej wpływ stresu wywołanego zakwaszeniem wody wnikałym z podwyższonego ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla na procesy

fizjologiczne 4 typowych dla południowego Bałtyku przedstawicieli bentosu: *Saduria entomon*, *Gammarus oceanicus*, *Mytilus edulis trossulus*, oraz *Macoma balthica*. Bezkręgowce te różnią się trybem życia, typem i tempem aktywności lokomotorycznej, sposobem odżywiania, a także wydajnością mechanizmów jono- i osmoregulacji. Wybór organizmów do eksperymentów uważam za trafny i dobrze uzasadniony.

Doktorantka przeprowadziła w sumie 4 eksperymenty laboratoryjne. W każdym z nich organizmy eksponowane były na działanie kilku różnych poziomów podwyższonego ciśnienia parcjalego CO<sub>2</sub> odpowiadających odczynowi wody w zakresie pH od 6.0 do 8.2. W dwóch eksperymentach bezkręgowce (*Saduria entomon*, *Macoma balthica*) poddane były działaniu podwyższonego ciśnienia parcjalego CO<sub>2</sub> w dwóch skalach czasowych: krótkiej, trwającej 12 godzin i długiej, trwającej 14 dni; w dwóch kolejnych eksperymentach testowano wpływ tylko krótkookresowej tj. 12- godzinnej ekspozycji *Gammarus oceanicus* i *Mytilus edulis trossulus* na obniżony poziom pH. Ponadto, w jednym z eksperymentów doktorantka badała wpływ dwóch czynników: podwyższonego ciśnienia parcjalego dwutlenku węgla i obniżonej zawartości tlenu w wodzie na metabolizm małża *M. edulis trossulus*.

Do oceny reakcji organizmów na stres związany ze wzrostem ciśnienia parcjalego CO<sub>2</sub> doktorantka zastosowała zarówno 1. obserwacje behawioralne takie jak: ocena aktywności lokomotorycznej organizmów, ocena tempa otwierania/zamykania muszli u małży, ocena stopnia zagrzebywania się organizmów w osadzie; oraz 2. pomiar parametrów fizjologicznych takich jak: stężenie jonów chlorkowych i stężenie osmotyczne, oraz pH hemolimfy u skorupiaków, a także pomiar tempa metabolizmu całkowitego, który mierzony był przy pomocy kalorymetrii bezpośredniej opartej o pomiar ciepła wyprodukowanego przez organizm.

Autorka rozprawy zaobserwowała, że krótkookresowa ekspozycja na zakwaszanie wody nie wpłynęła istotnie ani na behavior ani na tempo metabolizmu spoczynkowego badanych organizmów i nie doprowadziła do zwiększonych wydatków energetycznych. Ponadto, doktorantka nie zaobserwowała zmian w osmolalności hemolimfy u skorupiaków (*S. entomon* i *G. oceanicus*) zarówno podczas krótko- jak i długookresowej ekspozycji na zakwaszanie. Fakt, że utrzymanie wysokiego stężenia osmotycznego płynów ciała w różnych wariantach pH nie generowało dodatkowych kosztów energetycznych doktorantka uznała za adaptację badanych organizmów do dużych wahań CO<sub>2</sub> w środowisku.

Długookresowa ekspozycja na zakwaszenie wody wywołała zmiany w tempie metabolizmu u *M. balthica* ale tylko w najniższym eksperymentalnym pH =6.0, w którym zarówno spoczynkowe, jak i aktywne tempo metabolizmu wzrosło istotnie w stosunku do wariantu kontrolnego. Ponadto, doktorantka nie zaobserwowała synergistycznego wpływu obniżonego pH i obniżonego nasycenia wody tlenem na metabolizm *M. edulis trossulus* i na tej podstawie wywnioskowała, że niedobór tlenu jest dla tego małża bardziej stresującym czynnikiem, niż zakwaszenie.

Wyniki wszystkich 4 eksperymentów wskazują zdaniem autorki rozprawy na to, że wszystkie badane bezkręgowce są odporne na wzrost zakwaszenia wody wywołany wzrostem stężenia dwutlenku węgla. Autorka tłumaczy to faktem, że organizmy te są często narażone w ich naturalnym środowisku na fluktuacje pH charakterystyczne dla wód przybrzeżnych gdzie dobowe i sezonowe zmiany odczynu wody są dużo większe niż w otwartym oceanie. W efekcie organizmy te są, zdaniem autorki, przystosowane do wahań ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla i związanych z tymi wahaniami zmian odczynu wody. Trudno nie zgodzić się z taką interpretacją wyników uzyskanych przez doktorantkę szczególnie dlatego, że wartości pH zastosowane w eksperymentach mieszczą się w zakresie możliwych naturalnych wahań pH w środowisku.

Rozprawa doktorska P. mgr Jakubowskiej bez wątpienia zawiera bardzo cenny materiał i ma dużą wartość poznawczą. Wyniki dotyczące wpływu zakwaszenia wody na skorupiaki to pierwsze tego typu dane z rejonu Bałtyku. Ponadto, do oceny wpływu zakwaszenia wody na organizmy zastosowano po raz pierwszy w badaniach z tego zakresu kalorymetrię bezpośrednią, która umożliwiła jednoczesny pomiar tempa metabolizmu i obserwację zmian w aktywności organizmu podczas ekspozycji na bodziec. Dlatego też uważam, że doktorantka podchodzi oryginalnie do postawionego problemu i że pod względem naukowym rozprawa doktorska Pani Mgr Magdaleny Anny Jakubowskiej zasługuje na wysoką ocenę. Doktorantka wykazała się gruntowną wiedzą z zakresu biologii morza i fizjologii bezkręgowców morskich, szeroką znajomością literatury, którą potrafi prawidłowo wykorzystać do interpretacji wyników, oraz umiejętnością samodzielnej pracy. Ponadto, należy podkreślić, że doktorantka wykazała się świetnym opanowaniem warsztatu eksperymentalnego – przeprowadziła bowiem eksperymenty o wysokiej, w moim przekonaniu, skali trudności i wykazała się dużymi umiejętnościami analitycznymi.

O znaczeniu uzyskanych wyników świadczy fakt, że wszystkie zostały już opublikowane w postaci 4 artykułów naukowych w uznanych czasopismach międzynarodowych znajdujących się w bazie Journal Citation Reports, a więc posiadających współczynnik wpływu *Impact Factor*. Artykuły ukazały się w latach: 2013 (1 artykuł), 2015 (2 artykuły) i 2016 (1 artykuł). Dwa spośród tych artykułów opublikowane zostały w czasopiśmie *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* o IF=0.9 i 15 pkt MNiSW; jedna publikacja ukazała się w *Journal of Shellfish Research* o IF=0.79 i 20 pkt MNiSW, a kolejna publikacja ukazała się w czasopiśmie *Annales Zoologici Fennici* o IF=0.86 i liczbie punktów MNiSW równej 25. Sumaryczny *Impact Factor* tych czasopism wynosi zatem 3.45, a sumaryczna liczba punktów MNiSW to 75 pkt. Dwie publikacje doczekały się już cytowań – w sumie cytowane były do tej pory 7 razy. Wszystkie te statystyki świadczą o tym, że wyniki pracy doktorantki szybko weszły do międzynarodowego obiegu myśli naukowej.

W trakcie czytania i przygotowania recenzji niniejszej rozprawy nasunęło mi się jednak kilka uwag :

1. Pierwsza uwaga dotyczy sformułowania hipotez w streszczeniu rozprawy. Hipotezy zostały postawione w rozprawie w sposób niejasny. Najpierw na stronie 13 czytamy: „W pracy poczyniono szereg założeń. Jednym z nich było, że zakwaszanie wody wpłynie w istotny sposób na zachowanie badanych gatunków, co u skorupiaków może być związane ze zwiększoną aktywnością lokomotoryczną, spowodowaną chęcią ucieczki z niekorzystnych warunków środowiskowych” – to jest zapewne I hipoteza nazwana tu jednak ‘założeniem’. Dalej na stronie 14 czytamy: „Postawiono [...] kolejną hipotezę, że jednoczesna ekspozycja na niskie pH i niskie nasycenie wody tlenem spowoduje większe zmiany w badanych parametrach niż oba czynniki niezależnie”.

W tym kontekście nie wiadomo do której hipotezy odnieść stwierdzenie ze strony 17 mówiące, że „Przeprowadzane badania potwierdziły hipotezę, że bałtyckie bezkręgowce są odporne na zakwaszanie wody dwutlenkiem węgla. Co więcej, badane gatunki okazały się nawet lepiej przystosowane niż zakładano, ponieważ u większości z nich nie zaobserwowano zmian w mierzonych parametrach. Natomiast nieliczne, zanotowane zmiany także można uznać za przystosowanie do badanego czynnika.”

Wcześniej w tekście brak hipotezy do której to stwierdzenie mogło by się odnosić gdyż założono, że „zakwaszanie wody wpłynie w istotny sposób na zachowanie badanych gatunków”. Brak tu więc spójności.

2. Dlaczego w eksperymentach zastosowano różne wartości pH ? Jak dokonywano wyboru tych wartości ? Dlaczego w artykule 1 za wartość kontrolną przyjęto pH=8.2 a w trzech pozostałych pracach pH=8.1 – odpowiada to przecież wzrostowi kwasowości o około 30%.

3. Zgadzam się z Autorką, że w przyszłości pożądane są badania wpływu podwyższonego ciśnienia parcjalnego CO<sub>2</sub> na organizmy w dłuższej skali czasowej, a także badania innych procesów fizjologicznych czy tempa wzrostu. Długoterminowa ekspozycja na zakwaszenie trwała 14 dni. Dlaczego taki czas trwania eksperymentu wybrano ? Czy można się spodziewać, że dłuższa ekspozycja wywołałaby inny efekt ? Wydaje mi się, że trzeba pamiętać o tym, że długoterminowy spadek pH może przekroczyć granice tolerancji gatunków morskich żyjących w wodach przybrzeżnych, mimo tego, że wykształciły one mechanizmy pozwalające im radzić sobie w warunkach krótkoterminowych fluktuacji pH.

4. Co to znaczy, że *M. balthica* karmiona były osadem jak podano w artykule 3 ?

5. Wielokrotnie w pracy pojawiają się stwierdzenia mówiące o wpływie (lub jego braku) obniżonego pH na dany gatunek. Myślę, że posługiwanie się terminem ‘gatunek’ powinno być w tym przypadku ostrożniejsze, gdyż jak sama autorka rozprawy stwierdza na stronie 12 : „[...] obserwowana jest duża zmienność wewnątrzgatunkowa, związana z wykształcaniem lokalnych przystosowań do tego czynnika.” - stąd też, moim zdaniem, wniosków wynikających z obserwacji dokonanych na osobnikach poddanych opisanym w pracy eksperymentom nie powinno się przenosić zbyt pochopnie na cały gatunek. Myślę jednak, że jest to wyłącznie efekt skrótowego myślowego, a nie rzeczywistego zamierzenia Autorki.

W rozprawie pojawiły się nieliczne błędy literowe i gramatyczne, np.:

Strona 11: „Są one obserwowane zarówno w wodach powierzchniowych, jak i przydenne [...] - powinno być ‘przydennych’;

Strona 12: „Istniejąca na ten temat literatura ogranicza się do kilku badań równowagi kwasowo-zasadowej, respiracji, wzrostu osobiczego [...] – powinno być osobniczego ;

Strona 12: „Warto również zauważyć, że pomimo obserwowanego w ciągu ostatnich lat wzrostu zainteresowania badaniami dotyczącymi wpływu zakwaszania na organizmy

morskie, niewiele z nich koncentruje się na zmianach behawioru i tempa metabolizmu, będącymi pierwszymi zauważalnymi reakcjami [...] – powinno być ‘będących’ ;

Na stronie 17 pada stwierdzenie: „Przedstawiona rozprawa dostarcza pierwszych informacji na temat wpływu niskiego pH wody, spowodowanego wzrostem ciśnienia parcjalego dwutlenku węgla, na procesy fizjologiczne bezkręgowców z południowego Bałtyku i pierwszych informacji na temat wpływu tego czynnika na bałtyckie skorupiaki”. Zważywszy na fakt, że skorupiaki zaliczają się do bezkręgowców ostatnia część tego zdania jest niepotrzebna.

Wszystkie wymienione uwagi nie umniejszają w żaden sposób wartości rozprawy, którą oceniam bardzo wysoko. Doktorantka podeszła bardzo oryginalnie do postawionego problemu badawczego, a wyniki Jej pracy mają, moim zdaniem, dużą wartość poznawczą o czym świadczy też fakt, że już weszły do międzynarodowego obiegu myśli naukowej.

#### **Wniosek końcowy**

Biorąc pod uwagę powyższe argumenty mogę z pełnym przekonaniem stwierdzić, że rozprawa doktorska Pani **Mgr Magdaleny Anny Jakubowskiej** pt. „**Wpływ zakwaszenia wody dwutlenkiem węgla na procesy fizjologiczne bałtyckich bezkręgowców**” 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 Magdaleny Anny Jakubowskiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Barbara Urban-Malinga*

Barbara Urban-Malinga

Gdynia, 14. 05. 2016

