

dr hab. Magdalena Bełdowska, prof. UG

Gdynia, 09.01.2020 r.

## RECENZJA

**rozprawy doktorskiej pani mgr Anny Piwoni-Piórewicz**  
**pt. "CHEMISTRY OF CARBONATE SKELETONS OF BENTHIC**  
**INVERTEBRATES FROM THE BALTIC SEA"**

w języku polskim „Skład chemiczny węglanowych szkieletów bałtyckich  
bezkęgowców bentosowych”

*wykonanej w Instytucie Oceanologii Polskiej Akademii Nauk w Sopocie pod kierunkiem prof.  
dr hab. Piotra Kuklińskiego. Recenzja została wykonana na wniosek Dyrektora Instytutu prof.  
dr hab. Jana Marcina Węślawskiego (pismo DS./1441/19 z dnia 2019-11-08).*

Powierzona mi do recenzji praca doktorska została ukończona dzięki funduszom z dwóch projektów Narodowego Centrum Nauki (LOGGER/2017/25/N/ST10/02305 oraz PANIC/2016/23/B/ST10/01936). Składa się z 126 stron tekstu właściwego, a 147 wraz ze spisem rysunków, tablic i literatury. Biografia składa się prawie z 300 pozycji, w dużej przewadze anglojęzycznych. Praca jest napisana w języku angielskim z wyjątkiem siedmionastonnicowego streszczenia w języku polskim. Rozprawa w sumie składa się z sześciu rozdziałów i ma nietypowy układ: rozdziały II, III, IV oraz V są napisane (analogicznie jak w niektórych zagranicznych instytucjach) w formie artykułów jednakże nie są one zakończone wnioskami ani biografią co nieco utrudnia odbiór pracy.

Doktorat rozpoczyna się abstraktem i streszczeniem (rozdziały pominięte w spisie treści). Wersja w języku polskim streszczenia jest znacznie dłuższa od abstraktu w języku angielskim. W polskiej wersji streszczenia podano inny zakres zasolenia na badanych stacjach (6.1 -27.2 str.13; tab. 1.1) niż w angielskim abstrakcie (6.1-26.6 str.10). W całej pracy brakuje jednostki przy wartościach zasolenia. W streszczeniu pojawiło się kilka drobnych nieścisłości:

- Na str. 13 użyto nieprecyzyjnego sformułowania „na chemię szkieletów” - powinno być: na skład chemiczny szkieletów. Analogicznie na str. 14 „na chemię i formę węglanu wapnia w szkieletach”, powinno być: na skład chemiczny i formę węglanu wapnia w szkieletach.
- Str. 14 „Osiągnięcie powyższych celów pozwoli na weryfikację hipotezy badawczej” – powinno być: pozwoliło – praca została już napisana
- Str. 14 „zakwaszenia” – powinno być: zakwaszania. Woda morska nie ulegnie zakwaszeniu, obserwujemy jedynie spadek pH czyli zakwaszanie.
- „zmiany klimatu” – powinno być zmiana klimatu, analogicznie w języku angielskim climate change zamiast „climate changes”. Aktualnie obserwujemy zmianę klimatu. O zmianach klimatu możemy mówić w kontekście historii Ziemi.
- **Str. 15 „Malejąca proporcja aragonitu w muszlach małży *Mytilus sp.* w niższych zasoleniach, wskazuje, że organizmy te mają zdolność produkowania mniej rozpuszczalnej formy kalcytowej w erozyjnych warunkach środowiskowych” – nie do końca jest dla mnie jasne sformułowanie erozyjne warunki środowiskowe w kontekście zasolenia wody morskiej – proszę o komentarz**
- Str. 16: „(...) w Zatoce Gdańskiej, charakteryzującej się wysokim poziomem zanieczyszczeń (...)” – powinno być: podwyższonym stężeniem zanieczyszczeń w porównaniu do rejonów oddalonych od źródeł metali.
- Str. 16: „Niezależnie od czynników środowiskowych, Ca był najmocniej stężony w szkieletach aragonitowych małży (*C. glaucum*, *M. arenaria* i *L. balthica*), ...” powinno być: stężenie Ca było najwyższe w szkieletach aragonitowych.

W streszczeniu (które zawiera podsumowanie) interesujące byłoby podanie w kolejności stężenia metali w szkieletach węglanowych począwszy od np. najwyższych wartości.

Rozdział I składa się z informacji ogólnych na temat węglanu wapnia, węglanowych szkieletów, Morza Bałtyckiego jak również zawiera hipotezę, cele pracy oraz materiały i metody. Zabrakło mi tu uzasadnienia **dłaczego wybrano akurat te metale (Ca, Na, Sr, Mg, Ba, Mn, Cu, Pb, V, Y, U, Cd oraz K i Co) do badań**. Informacje podane na stronie 24 nie są wystarczające. **Brakuje informacji o ewentualnej toksyczności analizowanych pierwiastków**. W pracy umieszczono bardzo ładne zdjęcia, które wydatnie pomagają zrozumieć tematykę rozprawy doktorskiej jednakże brakuje autorów umieszczonych zdjęć. Również zwracam uwagę, że nie umieszczamy kropki po tytule rysunku czy tabeli. Samo słowo „gulf” powinno być napisane z małej litery (np. str. 26) – czasami jest napisane z małej litery. Z dużej litery piszemy jako nazwę własną np. Gulf of Gdańsk. Na str. 24 znajduje się

informacja: „(Watson *et al.*, 2012) showed that within shells of bivalve and gastropod molluscs, brachiopods, and echinoids, the total inorganic content decreased with latitude, decreasing temperature and decreasing water carbonate saturation state. Jednakże niedoprecyzowano „the total inorganic content” – czego?. Na stronie 27 znajdujemy zdanie “This dissertation focuses on the examination of chemistry (concentrations of Ca, Na, Sr, Mg, Ba, Mn, Cu, Pb, V, Y, U and Cd; elements important in terms of calcification, physiology and environmental monitoring)” ..... - **które metale są ważne w odniesieniu do tworzenia szkieletów, które w odniesieniu do fizjologii i monitoringu środowiska.** W rozdziale 1.8.3 brakuje opisu analizy potasu. Na uznanie zasługuje szerokie rozpoznanie literatury.

Rozdział II dotyczy zmienność biogenicznego  $\text{CaCO}_3$  w bezkręgowcach bentosowych Morza Bałtyckiego. W tym rozdziale zawarto również dyskusję na temat zmienności stężenia metali w badanych szkieletach bezkręgowców bentosowych co pomija temat rozdziału. Stanowi to bardzo wartościowy materiał jednak mam kilka pytań:

- **zgodnie z informacjami na str. 40 organizmy pobrano z 15 stacji w różnych miesiącach w przeciągu 12 lat(!) (2007-2019) (brakuje informacji kiedy były pobierane próbki ze stacji GO) - czy można te dane brać do jednego zbioru danych i wspólnie omawiać? Czy nie ma zmian sezonowych i czasowych w stężeniu badanych pierwiastków w Bałtyku na przestrzeni lat 2007-2019? Na rys. 2.3 niektóre gatunki charakteryzowały się dużym odchyleniem standardowym (np. *Einhornia crustulenta*, *Cryptosula pallasiana*): czy mogło to być związane z różnym okresem pobierania tych organizmów? Np. *Einhornia crustulenta* były pobierane w 2007 i 2016 roku (na podstawie tab. 2.1 i informacji ze str. 40).**
- **dłaczego analizy składu mineralogicznego szkieletów wykonano w 347 osobnikach (13 gatunków), a stężenia metali pomierzono w 206 próbkach (10 gatunków)? Na jakiej zasadzie dokonano selekcji? Dlaczego skład mineralogiczny był zbadany na 15 stacjach, a chemiczny na 12 stacjach? W ilu dokładnie gatunkach pomierzono metale?: - na str. 40 jest informacja, że w 10 gatunkach; z tabeli 2.1 widzimy, że w 13 gatunkach; na rysunku 2.3: w legendzie jest 9 gatunków, natomiast na osi OX jest 10 gatunków.**
- **skąd taki duży rozrzut stężeń niektórych pierwiastków w pewnych gatunkach na rys. 2.3? jakie znaczenie mogła mieć detoksykacja/oczyszczanie się organizmu poprzez**

**odkładanie toksycznych metali w szkieletach, zwłaszcza w przypadku *Einhornia crustulenta*, *Cryptosula pallasiana*? W mszywiolach (*Einhornia crustulenta*, *Cryptosula pallasiana* pomierzono najwyższe stężenia m.in. V, Pb, U, Cd z pośród badanych gatunków – dlaczego? Czy może to być spowodowane ich dużą powierzchnią adsorpcji?**

W tej części rozprawy wkradło się kilka nieścisłości:

- Brakuje informacji o ilości przebadanych organizmów każdego gatunku: można podać jako „n” w legendzie rysunku 2.3
- W tabeli 1.1 użyteczną informacją byłaby głębokość każdej stacji
- Jeśli rozkład danych ma charakteru nieparametryczny należy przedstawiać mediany zamiast wartości średnich oraz kwartyle zamiast wartości SD (tabela 2.2, rys. 2.3). W tabeli mogły znaleźć się i mediany i wartości średnie, jednak rysunek 2.3 powinien powstać na podstawie median.

Rozdział III przedstawia stężenia 12 pierwiastków w węglanowych szkieletach bałtyckich bezkręgowców bentosowych w poszczególnych klasach wielkości. Na uwagę zasługuje rozdział 3.2.2 w którym doktorantka wnikliwie opisała prezentowane gatunki. W opracowaniu brakuje informacji jakie gatunki pobrano z każdej stacji (mamy jedynie informacje, że „*Three species were found at MA, M2 and MW (one at each station), while two taxa were collected at station GN.*”). Brakuje podstawowych informacji na temat stacji takich jak głębokość, typ osadów – obecność drobnej frakcji wpływa na wzrost stężenia zanieczyszczeń w osadach i zawiesinie naddennej co ma wpływ na bioakumulację w organizmach bentosowych. Uważam, że przedstawione tu zależności mogą być maskowane przez zebranie wszystkich wyników (ze wszystkich stacji) do jednego zbioru danych. W rozważaniach Doktorantka nie wzięła pod uwagę typu osadu ani stężenia metali w osadach (choć na podstawie danych z literatury). Być może zależności byłyby bardziej widoczne gdyby brać pod uwagę organizmy z każdej stacji osobno. Stężenia pierwiastków w osadzie czy zawieszenie mogą różnić się istotnie na poszczególnych stacjach. Jaka była ich głębokość? Typ osadu? Biorąc organizmy młode z jednej stacji i stare z innej stacji możemy nie zaobserwować żadnych zależności. Na stronie 67 mamy informacje: „*Rainbow et al. (2004) compared the differences between the bioavailabilities of seven metals (Cu, Zn, Fe, Pb, Ni, Cd and Mn) to A. improvisus and Mytilus across five localities in the Gulf of Gdansk, including GN station, which was often the richest*

metal source for marine organisms. Among the stations selected in this study, GN is closer than MA, MW and M2 to the mouth of the Vistula River, which is a major source of metal contaminants in the marine system.” – sama bliskość Wisły nie decyduje o stężeniu metali w osadach. W osadach Głębi Gdańskiej są o wiele wyższe stężenia pierwiastków niż w rejonie stacji GN. Istotnym parametrem jest typ osadu, charakter rejonu: sedymentacyjny, transportu. W osadach piaszczystych stężenia pierwiastków są nawet kilka rzędów wielkości niższe niż w osadach mulistych. Str. 66: „*The disproportionality of Mn and Ba concentrations between molluscs and barnacles could reflect the ability of molluscs to limit vital processes and to reduce the calcification rate during stressful conditions* (Berge et al., 2006; Hiebenthal et al., 2012).” – a może związane jest to z szybszym wydalaniem tych pierwiastków przez małże? W wielu przypadkach w tym rozdziale stężenie metali jest wyższe w pąklach niż w małżach (Fig. 3.2) **może jest to związane z szybszą przemianą materii/detoksykacją? – proszę o komentarz.** W tym rozdziale również zauważyłam kilka nieścisłości:

- Str. 57-58 jeśli dane są nieparametryczne to powinny być mediany i kwartyle zamiast średnich i SD (tab. 3.2)
- Str 58 „, .... They had the highest concentration Na, Sr and Mg ... (Tab. 3.2)” – oprócz Ca (jego stężenie jest najwyższe) - pominięto tę informację
- Str 59 „Trace elements (V, Cu, Y, Cd, Ba, Pb, U) were generally present at higher concentrations in calcitic shells than in aragonitic ones” – nieprecyzyjne zdanie gdyż średnie stężenie Cu było porównywalne w kalcytowych szkieletach ((3,90mg/kg) do stężenia pomierzonego w szkieletach aragonitowych: *C. glaucum* (4,08 mg/kg) i *L. balthica* (3,00 mg/kg), podobnie stężenie U: w *A. improvisus* 0,108 mg/kg do stężenia *C. glaucum* 0,096 mg/kg. Natomiast Doktorantka pominięła stężenie Mg którego było wyraźnie wyższe w kalcytowych szkieletach w porównaniu do aragonitowych szkieletów.
- Str. 64 „We found differences in the concentrations of Mg and Sr between the calcitic, aragonitic and bimineralic taxa.” Brak przywołania rysunku. Zdanie nie do końca prawdziwe: nie zgadza się w przypadku stężenia Sr w kalcytowych szkieletach 0,225 mg/kg natomiast w *Mya arenaria* 0,216 mg/kg – podkreślić, że te różnice są wyraźne w odniesieniu do *C. glaucum* i *L. balthica*, a nie dla *M. arenaria*). Poza tym sformułowanie „we” w przypadku pracy doktorskiej nie będącej zbiorem opublikowanych prac jest niefortunne. Wyraz ten występuje w pracy ośmiokrotnie – pojawia się pytanie kto jest współautorem przedawnionej do recenzji pracy i jaki jest udział doktorantki.
- Str. 64 „, ... has the highest Mg concentration in its shells” – oprócz wapnia (jego stężenie jest najwyższe) - pominięto tę informację

- Str. 64 „( ....) *could act as species- specific adaptation* “ – no właśnie i czy z tego powodu możemy wspólnie omawiać trzy gatunki (*C. glaucum*, *L. balthica*, *M. arenaria*) jako przedstawiciele aragonitowych szkieletów jeśli w większości przypadków *Mya arenaria* odstaje od tendencji obserwowanych w przypadku *C. glaucum* i *L. balthica* (rys 3.2)
- Str 65: “*The concentrations of manganese and barium in the calcitic shells of A. improvisus were several orders of magnitude larger than those in other taxa, (...)*” obok Mg (jego stężenie jest najwyższe) - pominięto tę informację
- Str. 66: „*In contrast, the calcified shells of barnacles grow more or less continuously (Bourget and Crisp, 1975) and represent yearly calcification.*” – no właśnie, czy można porównać kilumiesięczne organizmy z osobnikami żyjącymi do kilku lat? Może właściwsze byłoby porównanie pąkli z młodymi małżami?
- Str. 67: „*The recorded concentrations of metals in all populations exhibited marked variability among individuals within a single location (Table 3.2),*” – które organizmy są z tej samej stacji? W tabeli 3.2 nie ma tej informacji.
- Str. 68: „*There are several studies confirming a negative relationship between metal concentrations and shell size (Ritz et al., 1982; Martincic et al., 1992; Piwoni-Piórewicz et al., 2017). Catsiki and Gialamas (1994) suggested that apart from metabolic processes, an active detoxification mechanism is responsible for this trend, and its efficiency is higher in older and larger individuals.*” – brak pracy Catsiki and Gialamas 1994 w spisie literatury. Ten proces jest głównie obserwowany w tkance miękiej. Właśnie jednym ze sposobów oczyszczania organizmu jest odkładanie toksycznych substancji w muszlach (piórach, sierści itd.), gdyby ten proces miał miejsce, to stężenia metali byłyby wyższe w dużych muszlach – starszych organizmach.

W rozdziale IV Doktorantka opisuje sezonowe zmiany stężenia metali w *Amphibalanus improvisus* i *Einhornia crustulenta* z jednej stacji Zatoki Gdańskiej. W tym przypadku pojawia się pytanie **dlaczego w rozdziale IV mgr Piwoni-Piórewicz omawia 14 pierwiastków a w pozostałych rozdziałach (II, III oraz V) 12?** W tym przypadku również zabrakło krótkiej charakterystyki badanej stacji: głębokość, typ dna, odległość od lądu. Informacje te pomogłyby w interpretacji wyników. Poniżej przedstawiam drobne uwagi:

- Str 75: „*Temperature results generated from the SatBaltic system, calculated based on remote sensing of the surface IR radiation, were validated with the in situ data from the HOBO loggers by linear regression with Spearman’s rank correlation (p = 0.05).*” – jakie jest R? w jakim celu jest podana ta informacja?
- W sytuacji gdy omawiana jest zarówno temperatury wody jak temperatura powietrza należy precyzyjnie napisać który parametr jest omawiany: czy temperatura wody czy powietrza (np. Fig. 4.3, str 77)

- Str. 79 podrozdział 4.3.2.1 (oraz 4.3.2.2) zaczyna się od tabeli – powinien rozpocząć się tekstem
- Str. 81 „*The concentrations of Mg, Mn, Ba and Cu in the calcitic skeletons of Amphibalanus improvisus were associated with environmental conditions, while those of Ca, Cd, Y and U were found to have no significant correlation with any of the studied environmental factors.*” – to jest wniosek, a pojawia się w rozdziale Wyniki. Brakuje przywołania rys.tab – nie wiadomo które dane potwierdzają to stwierdzenie.
- Str. 90 „*Furthermore, the observation of the highest Ca concentration in period 5 and the lowest in periods 1 and 6 (Figure 4.9) corresponds to the temperature variability (Figure 4.3) and slower Ca deposition with decreasing temperature.*” – nie napisano co to za sezony - utrudnia to zrozumienie dyskusji – analogicznie jest winnych miejscach dyskusji

W rozdziale V przedstawiono zmiany składu mineralnego i chemicznego w węglanowych szkieletach bałtyckich bezkręgowców bentosowych w zależności od zasolenia. Tu mam zastrzeżenie co do różnicy czasu między pobieraniem próbek na stacji B1 (2007) i pozostałymi stacjami (2013-2016).

Drobne uwagi:

- Str. 97 „*Therefore, the aim of this Chapter is to check the mineral types and measure the concentrations of Ca, Mg, Sr, Na, Mn, Ba, Cu, Pb, Y, V, Cd and U in skeletons of calcifying benthic fauna occurring along the natural salinity gradient in the Baltic Sea and Skagerrak (Danish Strait, the border between the Baltic Sea and North Sea).*” – cel powinien być na końcu wprowadzenia.
- Str. 99: „*The map that visualizes the long-term (2000 – 2016) Baltic Sea annual surface salinity and temperature illustrates the occurrence of the salinity gradient and shows rather homogenous surface temperatures within the study region (Figure 5.1).*” – na rysunku 5.1 zaprezentowano temperaturę wody i zasolenie z głębokości 0-5 m natomiast próbki były pobierane z głębokości do 10 m (B4 z głębokości 36m)
- Str. 103” *Figure 3 illustrates that, contrary to bryozoans, mussels had calcite contents*” – powinno być Figure 5.3
- Str. 103/104 w podpisie Tabeli 5.2 (i rozdziale 5.3.4) wymienionych jest 13 pierwiastków natomiast w samej tabeli jest 12 pierwiastków (brakuje danych dotyczących potasu)
- **Dlaczego nie we wszystkich organizmach z tabeli 5.1 pomierzono pierwiastki patrz tabela 5.2**
- Str. 114 Doktorantka opisuje wpływ zasolenia na zmiany zawartości Ca, Sr w szkieletach w różnych gatunkach, jednak stężenie Ca Sr w poszczególnych gatunkach zmienia się w niewielkim stopniu

- Str. 115 “*Many authors suggested that Mg contents in skeletons increase with increasing temperature (Kuklinski and Taylor, 2009; Smith et al., 2006; Kuklinski and Taylor, 2009; Krzeminska et al. 2016; Taylor et al., 2016) in species-specific ways (Smith et al., 1998; Smith and Girvan, 2010). The mean annual surface temperatures of the studied areas were rather homogenous (Figure 5.1), suggesting that the association of Mg in the calcification process was strongly influenced by biological effects.*” Średnia roczna temperatura wody jest jednorodna na badanych stacjach, może warto wziąć pod uwagę maksymalne temperatury jakie były na badanych stacjach. Biorąc pod uwagę różne głębokości pobierania próbek prawdopodobnie były inne na poszczególnych stacjach. W cieplejszej wodzie (choć przez krótki okres czasu) pewne procesy mogły zachodzić intensywniej prowadząc do wzrostu stężenia pierwiastków w szkielecie.

W ostatnim rozdziale VI Doktorantka zawarła podsumowanie i wnioski. Wykazała tu, iż wszystkie założone cele rozprawy doktorskiej zostały osiągnięte. Zabrakło mi komentarza co do wysokości pomierzonych stężeń pierwiastków. Proszę o informacje czy **pomierzone stężenia metali były na tyle wysokie, że mogły negatywnie wpływać na rozwój badanych organizmów lub ich konsumentów**

Proszę Doktorantkę o odpowiedź na wyłuszczone komentarze - pozostałe uwagi proszę wziąć pod uwagę pisząc artykuły

### **PODSUMOWANIE**

Pani mgr Piwoni-Piórewicz podjęła się niezmiernie trudnego zadania mianowicie napisania pracy biologiczno-chemicznej. Na uwagę zasługuje fakt, że podjęła się omówienia zmienności aż 12 pierwiastków różniących się od siebie właściwościami chemicznymi. Badania przeprowadziła na 13 gatunkach bezkręgowców bentosowych zbieranych na 15 stacjach umiejscowionych w rejonie Bałtyku ale charakteryzujących się różnymi parametrami środowiskowymi. Pomimo opisanych powyżej niedociągnięć uważam, że Doktorantka dobrze poradziła sobie z tak dużą bazą danych. Gdyby Pani magister opublikowała wcześniej zebrany materiał w formie trzech – czterech publikacji (które mogłyby stanowić pracę doktorską) na pewno uniknęłyby większości moich uwag. Praca doktorska przedstawia złożoność problemu budowania szkieletów węglanowych. Brak jednoznacznych silnych trendów, zależności w



bioakumulacji substancji chemicznych w węglanowych szkieletach bałtyckich bezkręgowców bentosowych od temperatury czy zasolenia jest bardzo ważnym wnioskiem wskazującym dalszy kierunek badań, który powinien brać pod uwagę również skład chemiczny otaczającego środowiska (zarówno wody jak i osadów), pokarmu jak również indywidualne cechy gatunkowe analizowanych organizmów. Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska stanowi bardzo cenny materiał badawczy dla naukowców w wielu rejonach świata.

Biorąc pod uwagę wartość naukową przedstawionej mi do recenzji Rozprawy Doktorskiej Pani Anny Piwoni-Piórewicz stwierdzam, że spełnia ona prawne wymogi stawiane rozprawom doktorskim w świetle obowiązujących przepisów. Wniosuję zatem do Rady Instytutu Oceanologii Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie Pani Anny Piwoni-Piórewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.