



dr hab. inż. Marta Staniszewska, prof. nadzw.
Instytut Oceanografii
Uniwersytet Gdański
Al. Marszałka Piłsudskiego 46
81-378 Gdynia

Gdynia, 13.09.2019

RECENZJA
rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Pouch
pt. „ASSESSMENT OF ORGANISMS EXPOSURE TO SELECTED
PERSISTENT ORGANOCHLORINE POLLUTANTS
IN WEST SPITSBERGEN FJORDS BENTHIC HABITATS”

(w j. pol. „Ocena narażenia organizmów na wybrane zanieczyszczenia z grupy trwałych zanieczyszczeń chloroorganicznych w siedliskach bentosowych fiordów zachodniego Spitsbergenu”)

wykonanej w Zakładzie Chemii i Biochemii Morza Instytutu Oceanologii Polskiej Akademii Nauk pod kierunkiem promotora Pani dr hab. Kseni Pazdro, prof. IO PAN oraz promotora pomocniczego pani dr hab. Agaty Zaborskiej, prof. IO PAN.

W rozprawie doktorskiej Pani mgr Anny Pouch poruszone są dwa ważne obecnie nurty badawcze. Pierwszym z nich są tzw. Trwałe Zanieczyszczenia Organiczne (TZO) (ang. Persistent Organic Pollution – POP; Konwencja Sztokholmska 2001), zaliczane do najbardziej uciążliwych zanieczyszczeń organicznych. Drugim troska o rejony polarne, tereny o małej aktywności antropogenicznej, wydawałoby się „wolne” od zanieczyszczenia. Praca wpisuje się w nurt badawczy związany z transgranicznym przemieszczaniem zanieczyszczeń, ich kumulacją w elementach abiotycznych rejonu oraz transportem do sieci troficznej. Do trwałych zanieczyszczeń organicznych należy szeroka gama związków chloro-, bromo- i fluororganicznych o największej trwałości, kumulacji w łańcuchu troficznym oraz zdolności do przemieszania na dalekie odległości z miejsca emisji. Ważną ich cechą jest również toksyczność w stosunku do organizmów już przy niskich „śladowych” stężeniach. Doktorantka do badań wytypowała związki

chloroorganiczne (OC) z listy TZO: polichlorowane bifenyle (PCBs) oraz heksachlorobenz (HCB), które już od dawna są wycofane z użycia i stosowania. Jednakże mogą nadal pojawiać się jako niezamierzone zanieczyszczenie, głównie emitowane do atmosfery, co sprzyja ich transgranicznemu przemieszczaniu i depozycji w rejonach chłodnych.

Heksachlorobenzen znajduje się na liście priorytetowych substancji niebezpiecznych w dokumencie, który wprowadza założenia tzw. Ramowej Dyrektywy Wodnej (Water Framework Directive –WFD; Dyrektywa 2000/60/WE) regulującej prawo wodne w Unii Europejskiej. Jest to Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2013/39/UE z dnia 12 sierpnia 2013 r. zmieniająca dyrektywy 200/60/WE i 2008/105/WE w zakresie substancji priorytetowych w dziedzinie polityki wodnej. Kongenery PCBs jak na razie podlegają przeglądowi w celu ewentualnego uznania ich za substancje priorytetowe lub niebezpieczne substancje priorytetowe. We wszystkich tych dokumentach podkreślany jest efekt wywoływany przez stan środowiska na bytujące w nich organizmy. Na plan pierwszy wysuwa się kontrola „zanieczyszczenia w organizmach ryb i innych jadalnych dla człowieka stworzeń morskich”. Podejście „biologiczne” w ostatnich latach wyłoniło nową grupę zanieczyszczeń tzw. związki endokrynnie aktywne (ang. Endocrine Disrupting Compounds – EDC). Jest to szeroka grupa ksenobiotyków, które spełniają kryterium oddziaływania na organizmy poprzez zaburzenia gospodarki hormonalnej. Należy tu szereg związków, które spełniają również wymogi innych klasyfikacji np. przynależą do TZO. W grupie tej PCBs oraz HCB przyjmują najwyższą *Kat.1* To znaczy, że *udowodniono ich oddziaływanie powodujące zakłócenia gospodarki hormonalnej u zwierząt oraz negatywny wpływ na zdrowie ludzi* (Revised report to DG Environment 2007).

Związki chloroorganiczne, zwłaszcza polichlorowane bifenyle są badane w środowisku od wielu lat. Jednakże obecność związków chloroorganicznych i ich rozmieszczenie w środowisku Arktyki jest bardzo słabo rozpoznane. Szczególnie brak jest w literaturze informacji o zanieczyszczeniu organizmów bentosowych tymi związkami. Organizmy bentosowe stanowią ważny składnik pokarmowy wielu gatunków ryb i ptaków, wprowadzają więc OC do łańcucha troficznego. W tym kontekście cel rozprawy doktorskiej - wykazanie, że organizmy bentosowe fiordów Spitsbergenu są narażone na trwałe zanieczyszczenia chloroorganiczne obecne w składowych abiotycznych ekosystemu, zwłaszcza w kontekście „nowych” zagrożeń antropogenicznych – jakim jest ocieplenie klimatu, jest bardzo ważny i stanowi element nowości naukowej. Doktorantka

ujęła problem kompleksowo, starając się określić czynniki warunkujące zmienność stężeń OC w środowisku abiotycznym i biotycznym badanych fiordów, określiła też rolę jaką pełnią organizmy bentosowe w transferze do organizmów z wyższych poziomów troficznych, w tym efektywność biakumulacji i biomagnifikacji.

Struktura pracy

Struktura pracy jest klasyczna dla prac przedstawianych w formie monografii i nie budzi zastrzeżeń. Praca jest napisana w języku angielskim. Jedynie abstrakt przedstawiono dodatkowo w języku polskim. Część teoretyczna, materiały i metody, wyniki badań oraz dyskusja zajmują proporcjonalną ilość stron (33+27(t+m)/57(w)/52(d)). Dodatkowo praca opatrzona jest streszczeniem (w j. polskim i angielskim), spisem skrótów i akronimów, krótkim podsumowaniem, spisem literatury, rysunków i tabel oraz załącznikami (wyłącznie w formie elektronicznej). Łącznie praca liczy 215 stron, co czyni ją obszerną, choć po jej przeczytaniu trudno stwierdzić, aby jakaś część była zbędna lub wymagająca skrócenia. Pracę ubogacają bardzo liczne rysunki i wykresy – naliczyłam ich 98, oraz tabele 27 (dotyczy tekstu pracy, nie uwzględniłam tu załączników na płycie CD). W formie elektronicznej dołączono 3 załączniki zawierające szczegółowe wyniki badań oraz z walidacji metod analitycznych. Załącznik A zawiera bardzo interesującą tabelkę ze spisem zidentyfikowanych organizmów, opatrzoną fotografiami. Rozprawa zakończona jest imponującym spisem aktualnych pozycji piśmienniczych, świadczącym o dobrym rozpoznaniu literaturowym tematu.

Ocena merytoryczna pracy

Abstrakt-dosyć nietypowy, ma układ mini pracy streszczający wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusje, podsumowanie i wnioski. Po jego przeczytaniu czytelnik, ma możliwość zapoznania się z założeniami całej pracy. Mam jednak następujące uwagi:

1. w materiałach i metodach abstraktu zabrakło mi informacji o badanych organizmach – mamy tylko informacje, że należały do 72 taksonów, tylko z wcześniejszego tekstu możemy wnioskować, że były to organizmy bentosowe.
2. polichlorowane bifenyle zapewne różnią się parametrami fizyczno- a nie fizyko-chemicznymi.
3. zabrakło mi wyjaśnień skrótów, przy pierwszym wzmiankowaniu o nich w tekście (AREX, sonda CTD).

4. w materiałach i metodach abstraktu w stosunku do oznaczanych analitów mamy podaną granicę oznaczalności, natomiast w części abstraktu - wyniki/dyskusja Pani magister operuje granicą (a właściwie błędym, pochodzącym wprost z j.angielskiego sformułowaniem „limitem”) wykrywalności i skrótem LOD ? Proszę o informację czy w pracy podaje Pani granice oznaczalności czy wykrywalności, jeśli wykrywalności to proszę o wyjaśnienie dlaczego ?

5. jaka była precyzja stosowanych metod, w abstrakcie jest wzmianka, że ją wyznaczono, natomiast w pracy nie znalazłam informacji o precyzji stosowanych metod analitycznych.

Wprowadzenie – stan wiedzy i zakres pracy

Rozdział ten w głównej mierze przedstawia stan wiedzy na temat badanych związków (historię stosowania, regulacje prawne, właściwości, losy i zachowanie w środowisku/organizmach) zwłaszcza w kontekście rejonów arktycznych. Przedstawiona tu wiedza nie budzi moich większych zastrzeżeń, świadczy o bardzo dobrej wiedzy teoretycznej w zakresie problematyki podjętych badań. Podobnie zakres pracy, hipotezy badawcze, cele/pytania badawcze oraz zadania badawcze również zostały poprawnie i logicznie opisane, z wypunktowaniem nowości pracy.

Zabrakło mi jednak, aby Doktorantka szerzej opisała przynależność PCBs i HCB do związków endokrynnie aktywnych. Ograniczyła się tylko na str. 4 do stwierdzenia „.....”several organochlorine pesticides are endocrine disrupting chemicals “. Związki tego typu obecnie postrzegane są jako odpowiedzialne za wiele zakłóceń zachowań oraz zaburzeń układu rozrodczego co ma bezpośrednie przełożenie na przetrwanie gatunków. Doktorantka powinna szerzej opisać/podkreślić ten problem w swojej pracy.

Doktorantka szeroko wspomniała o “historycznych” źródłach PCBs i HCB do środowiska. Prosiłabym aby na wystąpieniu rozwinęła wątek obecnych źródeł tych związków, nie tylko w rejonach arktycznych. Ciekawi mnie również wyjaśnienie wagi źródeł lokalnych (w stosunku to transgranicznych) omawianych w pracy zanieczyszczeń chloroorganicznych w Arktyce.

Materiały i metody

W rozdziale tym bardzo dokładnie opisano lokalizacje miejsc pomiarowych, sposób pobierania próbek i ich konserwację. Następnie przybliżono procedurę analityczną oznaczeń związków chloroorganicznych z wyszczególnieniem użytych odczynników i sposobem postępowania z próbką. Opisano też procedury oznaczeń parametrów

dotychczasowych w wodzie jak zawartości: zawiesiny, węgla organicznego (rozpuszczonego, zawieszono), temperaturę i zasolenie, a w osadzie: wilgotności i granulometrii osadu, zawartości materii organicznej. W organizmach m.in.: zawartości lipidów oraz klasyfikacji taksonomicznej. Łącznie pobrano i zanalizowano **28** próbek wody morskiej (w tym zawiesiny), **18** osadów dennych oraz **214** próbek organizmów. Warta podkreślenia jest biegłość analityczna Doktorantki, którą siłą rzeczy musiała nabyć oznaczając badane związki w tak różnych matrycach. Na poprawność wyników wskazuje również uczestnictwo w pracach szerszego zespołu: we współpracy z Centre for Polar Studies, Leading National Research Centre (KNOW) oraz w ramach the Polish Ministry of Science and Higher Education grant through project Preludium no. 2016/23/N/ST10/01358 for 2017 - 2019 years and IO PAN statutory activity.

Do tego rozdziału mam następujące pytania/uwagi:

1. W jaki sposób, jakim przyrządem pobierano próbki wody (powierzchniowej, przydennej) w celu oznaczeń PCBs i HCB.
2. nie jest do końca dla mnie jasne jak wyznaczano dokładność metody. Stosowano dwa materiały odniesienia - marine sediment material (IAEA – 383) and certified fish homogenate material (IAEA – 406). Czy informacja Recoveries of individual compounds ranged from 77 to 104%- dotyczy właśnie materiałów referencyjnych ? A co z wodą, zawiesiną, i innymi organizmami (niż ryby) jak tam wyznaczano odzysk lub dokładność metody ? Nie znalazłam też informacji o precyzji metody.
3. w kilku miejscach zauważyłam niekonsekwencję w zapisie jednostki stężenia badanych związków w wodzie, wyrażano ją raz na „l” raz na „L” np. str 42

Wyniki

Wyniki opisano bardzo obszernie. Przedstawiono je na 57 stronach co zajmuje ponad 1/3 pracy. Rozmiar tego rozdziału jest rezultatem zapewne aż z 66 rysunków (wykresów) przedstawiających w sposób graficzny uzyskane wyniki. Niewątpliwie ułatwia to spojrzenie czytelnikowi na ogrom uzyskanych wyników. Wyniki poddano analizie statystycznej. Po zapoznaniu się ze zbiorem uzyskanych danych, nie mam wątpliwości, że zakres prac był dobrze zaplanowany i pozwolił Doktorantce w sposób zasadny odpowiedzieć na stawiane cele.

Mam jednak następującą uwagę do tej części pracy (a także do części Dyskusja). Zazwyczaj kluczową informację o najmniejszym możliwym do oznaczenia stężeniu

dostarcza nam granica ilościowego oznaczenia (LOQ), a nie granica wykrywalności metody (LOD)...dlatego wydaje mi się, że w kontekście omawiania wyników powinno się odnosić do LOQ, a nie LOD. Tak opisano wyniki w tekście, a także na wielu wykresach. Widać też pewną niekonsekwencję stosowania raz LOD, raz LOQ (przykładowo na rys. 3.16./3.40/3.43.... w przedstawieniu wyników stosowano granice oznaczalności lub wykrywalności w zależności od oznaczanych organizmów). Jednocześnie chcę podkreślić że LOQ metody zostało wyznaczone i przedstawione w pracy – w załączniku B.

Dyskusja

Dyskusję wyników przedstawiono na 52 stronach, co też stanowi 1/3 pracy. Rozpoczyna się ona standardowo od porównania stężeń OC w wodzie z innymi rejonami świata. W tab 4.1. brak mi jednak podzielenia doniesień literaturowych w klarowne obszary geograficzne. Następnie bardzo szczegółowo poddano analizie czynniki mające wpływ na obecność i rozmieszczenie poszczególnych zanieczyszczeń w wodach badanych fiordów tj.: właściwości fiz.-chem. wody, a także topnienie lodowców, działalność antropogeniczna. Ciekawym i ważnym spostrzeżeniem jest obserwacja wyższych stężeń badanych związków w pobliżu topniejących lodowców, co może wskazywać na wtórne źródło zanieczyszczeń, powiązane ze zmianami klimatycznymi. Ważną informacją jest również stwierdzenie wzrostu stężeń OC w wodach w rejonie Arktycznym. Doktorantka wykazuje jednak, że stężenia te zarówno w wodach jak i osadach nadal są niskie i nie zagrażają bytującym tam organizmom.

Część dyskusji dotycząca organizmów zaczyna się podobnie, porównaniem zmierzonych stężeń OC z innymi rejonami, zwłaszcza arktycznymi co jest poparte cenną i rozbudowaną tabelką 4.7. Ciekawym spostrzeżeniem w tej części jest brak korelacji pomiędzy stężeniami OC i zawartością tłuszczu w zooplanktonie oraz wystąpieniem niskiej zależności między tymi parametrami u organizmów bentosowych. Doktorantka sugeruje więc, że normalizacja wyników w stosunku do zawartości tłuszczu u organizmów, zwłaszcza przy niskich stężeniach zanieczyszczeń organicznych może być nieodpowiednia. W tej części dyskusji Doktorantka wykazuje, że niekiedy stężenia HCB w organizmach bentosowych mogą być podwyższone (zanotowano dwa takie pomiary), zaleca więc dalsze monitorowanie stężeń HCB rejonie arktycznym.

Doktorantka bardzo szczegółowo i ciekawie omawia zależności stężeń PCBs i HCB w organizmach bentosowych w stosunku do ich aktywności, intensywności pobierania pokarmu (pasywne, aktywne), źródła i rodzaju pobieranego pokarmu, sposobu życia.

Doktorantka wykazuje, że organizmy bardziej ruchliwe, aktywne efektywniej akumulują OC w swoich tkankach. Doktorantka tłumaczy to wyższym poziomem troficznym i „mięsożerną” strategią żywienia występującą przeważnie w tej grupie organizmów. Cennych informacji dostarczają nam wyznaczone współczynniki bioakumulacji (BAF) i biomagnifikacji (BMF), zwłaszcza, że brak wcześniejszych informacji na ten temat w literaturze dotyczącej Arktyki. Dodatkowo, w rozprawie obliczono współczynniki troficznej magnifikacji (TMF) dla organizmów bentosowych. Wyliczenia wskazują w badanych fiordach Spitsbergenu na akumulację OCs w organizmach i ich biomagnifikację w łańcuchu troficznym.

Znaczenie podjętej problematyki – ocena nowości pracy

Praca Pani mgr. Anny Pouch dostarcza nowych informacji na temat obiegu polichlorowanych bifenyli i heksachlorobenzenu w ekosystemach fiordów zachodniego Spitsbergenu.

Warte podkreślenia w prezentowanej rozprawie są następujące osiągnięcia Doktorantki:

1. W przypadku fiordu Hornsund, a także w przypadku organizmów arktycznych z najniższego poziomu troficznego uzyskane wyniki stężeń i rozmieszczenia związków chloroorganicznych są pierwszymi doniesieniami badawczymi.
2. Wskazanie zalecenia dalszych badań zanieczyszczeń chloroorganicznych zwłaszcza stężeń heksachlorobenzenu w rejonie arktycznym, którego stężenia bywały podwyższone.
3. Wskazanie czynników abiotycznych i biotycznych wpływających na stężenia zanieczyszczeń chloroorganicznych w wodach, osadach i organizmach w rejonach arktycznych.
4. Wskazanie topnienia lodowców za ważny czynnik wpływający na stężenia zanieczyszczeń chloroorganicznych, co może być niekorzystne dla ekosystemu arktycznego w perspektywie dalszych zmian klimatycznych.
5. Wyznaczenie akumulacji OCs w organizmach i ich biomagnifikacji w łańcuchu troficznym, w badanych fiordach Spitsbergenu. Powiązanie tych procesów z zróżnicowaniem międzygatunkowym związanym ze sposobem odżywiania i życia.
6. Wykazanie, że normalizacja wyników w stosunku do zawartości tłuszczu u organizmów, zwłaszcza przy niskich stężeniach zanieczyszczeń organicznych może być nieodpowiednia.

Podsumowując przedstawiony zakres prac, interpretacje uzyskanych wyników oraz płynące z tego wnioski należy uznać za nowatorskie, kompleksowe i wypełniające lukę badawczą dotycząca zanieczyszczeń chloroorganicznych w rejonach arktycznych. Uzyskane zaś dane mogą stanowić bazę dla modeli transportu zanieczyszczeń i modeli bioakumulacji w ekosystemach arktycznych. Z kolei wymienione przeze mnie uwagi nie obniżają wysokiej wartości merytorycznej pracy.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, więc iż rozprawa doktorska autorstwa Pani mgr. Anny Pouch pt.: „Assessment of organisms exposure to selected persistent organochlorine pollutants in west Spitsbergen fjords benthic habitats” (w j. pol. „Ocena narażenia organizmów na wybrane zanieczyszczenia z grupy trwałych zanieczyszczeń chloroorganicznych w siedliskach bentosowych fiordów zachodniego Spitsbergenu”) wykonana w Zakładzie Chemii i Biochemii Morza Instytutu Oceanologii Polskiej Akademii Nauk pod kierunkiem promotora Pani dr hab. Kseni Pazdro, prof. IO PAN oraz promotora pomocniczego pani dr hab. Agaty Zaborskiej, prof. IO PAN spełnia aktualne wymagania merytoryczne i formalne Ustawy o Stopniach i Tytule Naukowym, w związku z czym wnoszę więc do Rady Naukowej Instytutu Oceanologii PAN o dopuszczenie Pani mgr Anny Pouch do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie chciałabym podkreślić, iż przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr. Anny Pouch świetnie wpisuje się we współczesny nurt badań istotnych i wzbudzających szerokie zainteresowanie wśród naukowców. Biorąc pod uwagę złożoność rozwiązywanego zagadnienia, obszerny zakres pracy, dużą wnikliwość i rzetelność Doktorantki w prowadzeniu pracy naukowej, **wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Oceanologii PAN o rozważenie wyróżnienia pracy doktorskiej Pani mgr Anny Pouch.**

dr hab. inż. Marta Staniszevska, prof. nadzw.

Marta Staniszevska