

Dr hab. Barbara Kremer, prof. PAN  
Instytut Paleobiologii PAN  
ul. Twarda 51/55  
00-818 Warszawa  
E-mail: kremer@twarda.pan.pl

Warszawa, 28 sierpnia 2020 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Krajewskiej pod tytułem  
*Karotenoidy w osadach jako wskaźniki zmian zachodzących w środowisku morskim*  
(ang. *Carotenoids in sediments as markers of changes in the marine environment*)**

**Informacje wstępne**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi obszerne studium karotenoidów z osadów wybranych akwenów morskich w kontekście zmian zachodzących w środowisku morskim na przestrzeni ostatnich kilku tysięcy lat. Poruszane w rozprawie zagadania dotyczą produkcji pierwotnej, klimatu oraz taksonomii fitoplanktonu. Rozprawa została napisana w Pracowni Chemicznych Zanieczyszczeń Morza, w Instytucie Oceanologii PAN w Sopocie w ramach studiów doktoranckich w Centrum Studiów Polarnych (IOPAN – CSP KNOW) pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Grażyny Kowalewskiej, promotora głównego oraz dr hab. inż. Małgorzaty Szymczak-Żyły, prof. PAN promotora pomocniczego.

Rozprawa składa się z cyklu sześciu publikacji naukowych, który poprzedzony został obszernymi streszczeniami angielskim i polskim, liczącymi odpowiednio 13 i 14 stron, i opatrzonymi wspólną literaturą składającą się z 53 pozycji. Publikacje te stanowią wszechstronne opracowanie karotenoidów ze środowiska morskiego i są spójnym tematycznie zbiorem prac. Artykuły składające się na rozprawę zostały opublikowane w międzynarodowych czasopismach z wyliczonym czynnikiem oddziaływania (tzw. *impact factor*). Prace ukazały się drukiem w latach 2017 (3 prace), 2019 (2 prace) i 2020 (1 praca).

Prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej to:

[1] Carotenoid determination in recent marine sediments - practical problems during sample

- preparation and HPLC analysis. **Krajewska M.**, Szymczak-Żyła M., Kowalewska G. *Current Chemistry Letters*. 2017. Vol. 6. 91-104. IF=0,84
- [2] Tracking trends in eutrophication based on pigments in recent coastal sediments. Szymczak-Żyła M., **Krajewska M.**, Winogradow A., Zaborska A., Breedveld G.D., Kowalewska G. *Oceanologia*. 2017. Vol. 59. 1-17. IF=2,02
- [3] Canthaxanthin in recent sediments as an indicator of heterocystous cyanobacteria in coastal waters. **Krajewska M.**, Szymczak-Żyła M., Kobos J., Witak M., Kowalewska G. *Oceanologia*. 2019. Vol. 61. 78-88. IF=2,198
- [4] Algal pigments in Hornsund (Svalbard) sediments as biomarkers of Arctic productivity and environmental conditions. **Krajewska M.**, Szymczak-Żyła M., Kowalewska G. *Polish Polar Research*. 2017. Vol. 38. 423-443. IF=1,118
- [5] Climate change impact on primary production and phytoplankton taxonomy in Western Spitsbergen fjords based on pigments in sediments. **Krajewska M.**, Szymczak- Żyła M., Tylmann W., Kowalewska G. *Global and Planetary Change*. 2020. Vol. 189. 103158. IF=4,100
- [6] Present and Past-Millennial Eutrophication in the Gulf of Gdańsk (Southern Baltic Sea). Szymczak-Żyła M., **Krajewska M.**, Witak M., Ciesielski T.M., Ardelan V.M., Jenssen B.M., Winogradow A., Filipkowska A., Lubecki L., Zamojska A., Kowalewska, G. *Paleoceanography and Paleoclimatology*. 2019. Vol. 34. 136-152. IF=3,09

### **Ocena rozprawy doktorskiej, ocena wyboru tematu pracy, celu i hipotez badawczych**

Celem recenzowanej rozprawy było porównanie karotenoidów ze współczesnych osadów morskich wybranych rejonów przybrzeżnych Europy Północnej, a także przetestowanie ich jako wskaźników stanu troficznego środowiska morskiego i zachodzących w nim przemian. Doktorantka przyjęła założenie, że zachowane w osadzie karotenoidy, jako pospolite związki występujące w fitoplanktonie, makroglonach, bakteriach, roślinach naczyniowych i innych organizmach zwierzęcych, mogą posłużyć jako uniwersalne wskaźniki przemian mikrobiologicznych, jakie zachodziły w kolumnie wody na przestrzeni setek i tysięcy lat. Uważam, że cele i hipoteza rozprawy zostały postawione poprawnie, są ciekawe i dają możliwość wykazania się opanowanym warsztatem naukowym.

Obszar badań Doktorantki stanowiły wybrane akweny półkuli północnej różniące się pod względem hydrogeologicznym, klimatycznym i ekologicznym. Próbki do badań zostały pobrane w trakcie dwóch rejsów r/v „Oceania” (IO PAN) w kwietniu i czerwcu 2014 r. oraz w kwietniu 2015 r. podczas rejsu r/v „IMOR” (Instytut Morski, Gdańsk). Wszystkie rejsy odbyto w ramach realizacji polsko-norweskiego projektu CLISED (2014-2017). W sezonach 2015, 2016, 2017 podczas rejsów r/v „Oceania” zostały pobrane osady powierzchniowe z fiordów Spitsbergenu.

Pierwsza praca z cyklu sześciu publikacji [1] *Carotenoid determination in recent marine sediments - practical problems during sample preparation and HPLC analysis* wprowadza w problematykę metodologii i procedur analitycznych stosowanych przy ekstrakcji karotenoidów. Zostały w niej szczegółowo omówione zagadnienia techniczne i metodologiczne związane z ekstrakcją pigmentów, w tym w szczególności dopracowanie samej metody ekstrakcji i wpływu temperatury kolumny wody na rozdzielanie karotenoidów, jak również porównanie różnych metod obliczeniowych i wpływ wybranej metody na uzyskane wyniki.

Praca druga [2] *Tracking trends in eutrophication based on pigments in recent coastal sediments* jest kompleksową analizą pigmentów w osadach z Zatoki Gdańskiej i fiordów norweskich (Oslofjord/Drammensfjord). Beta karoten (*B-car*) został tu z sukcesem zastosowany jako wskaźnik śledzenia zmian produkcji pierwotnej i eutrofizacji badanych akwenów. W pracy wykazano, że udział karotenoidów w osadach Zatoki Gdańskiej jest w stacjach P1, M, P116, P110 wyższy, niż w innych lokalizacjach badanej zatoki i fiordach norweskich. Wyższa ich kumulacja koreluje się wyraźnie z obniżonym poziomem tlenu w strefie przydennej i słabym mieszaniem się osadu powierzchniowego. Nieco inny rozkład pierwiastków zaobserwowano w stacjach z obszaru fiordów norweskich, gdzie w osadach powierzchniowych pigmenty występują w kumulacji podobnej lub obniżonej w stosunku do osadów głębszych. Zachowanie pigmentów odnotowano w próbkach z większym udziałem drobnej frakcji osadu, takiej jak muł czy ił. W przypadku, gdy wyższa zawartość pigmentów nie koreluje się z warunkami beztlenowymi (i vice versa) takie zjawisko tłumaczone jest wzmożoną intensywnością produkcji pierwotnej w kolumnie wody. Dodatkowo analizie poddano inne parametry środowiska, takie jak typ osadu, izotopy węgla i azotu z materii organicznej, tempo akumulacji oraz inne parametry wód przydennych. Zachowanie

pigmentów zostało skonfrontowane z innymi czynnikami fizycznymi i ekologicznymi wody, co czyni tę pracę oryginalną i znaczącą dla interpretacji subfosylnej materii organicznej. Muszę jednak zwrócić uwagę, że w tej publikacji bardzo trudno jest oddzielić indywidualny udział doktorantki, jak wymaga tego Ustawa, gdyż karotenoidy stanowią jedynie część analizowanych pigmentów, a Doktorantka nie deklaruje w dołączonym oświadczeniu udziału w pisaniu manuskryptu. Ponieważ jednak jest drugą autorką i występuje w kolejności niealfabetycznej przyjmuję, że jej rola w powstaniu tej pracy była znacząca.

Praca kolejna [3] *Canthaxanthin in recent sediments as an indicator of heterocystous cyanobacteria in coastal waters* przedstawia zapis pigmentów cyjanobakterii w płytkich osadach (do 20 cm) z Zatoki Gdańskiej i fiordów norweskich. Celem tego opracowania było wykazanie udziału cyjanobakterii w całkowitej produkcji chlorofilu-a w wodach przybrzeżnych bazując na markerach sinicowych karotenoidach i chloropigmentach. W pobranych próbkach osadu z 12 stanowisk, po sześć w Zatoce Gdańskiej i w fiordach norweskich Oslofjord/Drammensfjord, wytypowano i oznaczono kilka markerów sinicowych. W celu ich poprawnego przypisania do poszczególnych grup cyjanobakterii przeanalizowano 19 kultur cyjanobakteryjnych pochodzących z kolekcji Instytutu Oceanografii UG i wyizolowanych ze środowiska morskiego i jeziornego, w tym: osiem należących do *Nostocales*, pięć planktonowych *Nodularia spumigena*, trzy bentosowe *Anabaena* i *Tricharmus variabilis*, oraz *Aphanizomenon flos-aquae* ze środowiska jeziornego. Ponadto analizowano kultury *Pseudanabaena* i *Lyngbya aestuari*, a także cyjanobakterie kokoidalne z grupy *Chroococcales* (*Synechocystis*, *Synechococcus*, *Cyanobium* i *Microcystis aeruginosa*). Wnioski wypływające z tej pracy są trojakiemu rodzaju. Po pierwsze, w rezultacie przeprowadzonych badań wykazano, że najlepszym markerem dla bałtyckich cyjanobakterii diazotrofowych tworzących masowe zakwity jest kantaksantyna (ang. canthaxanthin). Taki wniosek stoi niejako w opozycji do wytypowanego przez innych autorów markeru cyjanobakterii wiążących azot - zeaksantyny (ang. zeaxanthin). Ponadto, potwierdzono, że inny związek echinenon (ang. echinenone) może służyć jako uniwersalny marker sinicowy, choć wykazuje mniejszą stabilność niż inne pigmenty. Po drugie, cyjanobakterie tworzące częste zakwity w Zatoce Gdańskiej są pochodzenia morskiego, na co wskazuje pozytywna korelacja z planktonowymi morskimi i brakicznymi okrzemkami. Po trzecie, oszacowano udział cyjanobakterii w całkowitej produkcji chlorofilu-a w Zatoce Gdańskiej na 4.6%, a w Fjordzie Oslo na ok. 5.8%. Dodatkowo w pracy z badanych próbek wykonano analizę okrzemkową z ich podziałem na różne preferencje środowiskowe.

Praca czwarta wchodząca w skład rozprawy [4] *Algal pigments in Hornsund (Svalbard) sediments as biomarkers of Arctic productivity and environmental conditions* jest studium chloropigmentów-a i karotenoidów z osadów powierzchniowych (o miąższości do 20 cm) fiordu Hornsund na Spitsbergenie i jego produktywności w nieodległej historii. Doktorantka wyznaczyła udział karotenoidów w ogólnym składzie pigmentów oraz użyła sumy stężeń karotenoidów jako wskaźnika produktywności. Szczególną uwagę poświęcono przydatności chloropigmentów-a i karotenoidów do interpretacji pierwotnej produkcji w osadach subfosylnych, szczegółowo omówiono ograniczenia tej metody. Analiza poszczególnych karotenoidów posłużyła do oszacowania składu taksonomicznego fitoplanktonu. Moim zdaniem nieco słabo został w tej pracy przedyskutowany problem zachowania pigmentów w osadzie w odniesieniu do jego cech sedymentologicznych i fizykochemicznych takich jak: wielkość i typ uziarnienia, temperatura, skład wód porowych, a zwłaszcza obecność tlenu (natlenienie osadu). Wpływ środowiska sedymentacji na zachowanie pigmentów jest problemem kluczowym, zwłaszcza przy interpretacji potencjału fosylizacyjnego materii organicznej w osadzie.

Praca przedostatnia [5] *Climate change impact on primary production and phytoplankton taxonomy in Western Spitsbergen fjords based on pigments in sediments* dotyczy stricte zagadnień klimatycznych i ma na celu próbę określenia wpływu zmian klimatycznych obserwowanych w ostatnich dziesięcioleciach na rozwój fitoplanktonu i produkcję pierwotną w obszarach polarnych. Terenem badań były fiordy zachodniego Spitzbergenu. Pobrano dziewięć rdzeni z czterech fiordów, a z pięciu rdzeni najbogatszych w materię organiczną określono wiek osadów z wykorzystaniem radioizotopów  $^{210}\text{Pb}$  i  $^{137}\text{Cs}$ . Badania uzupełniono o analizę wielkości ziaren osadu oraz izotopów węgla organicznego i azotu. Kompleksowa analiza pigmentów posłużyła do rekonstrukcji zmian klimatycznych na przestrzeni ostatnich 70-130 lat. Zaproponowano sumę 19'-hexanoyloxyfukoksantynę i 19'-hexanoyloxy-4-ketofukoksantynę do diatoksantyny [ $\Sigma\text{Hexcs}/\text{Diato}$ ] w osadzie jako wskaźnik zmian proporcji udziału haptofytów do okrzemek i dinoflagellatów, które to zmiany pojawiają się z powodu napływu cieplejszych wód atlantyckich. Ponadto zmienność tych markerów w czasie może zdaniem Doktorantki wskazywać na zmianę produkcji pierwotnej i składu fitoplanktonu stowarzyszoną z ocieplaniem się klimatu. Wykazano również, że zmiany związane z ociepleniem klimatu zaznaczają się także w strefie arktycznej, choć z opóźnieniem. Doktorantka zabrała sporo danych dodatkowych (uziarnienie osadu, izotopy węgla i azotu), które zostały chyba zbyt skromnie przedyskutowane w artykule.

Na uwagę zwraca fakt, że w tej pracy (najmłodszej, bo z 2020 roku) widać wyraźne rozwinięcie warsztatu naukowego i większą dojrzałość badawczą Doktorantki.

W pracy zamykającej zbiór publikacji rozprawy [6] *Present and Past-Millennial Eutrophication in the Gulf of Gdańsk (Southern Baltic Sea)* analizie poddane zostały osady starsze, zdeponowane w ciągu ostatnich kilku tysięcy lat (3500 r. p.n.e. do dziś), z tak zwanej Głębi Gdańskiej w celu prześledzenia warunków środowiskowych, w tym w szczególności intensywności zakwitów cyjanobakterii. Praca przedstawia zapis zeaksantyny, kantaksantyny i echinenonu w osadzie w krótkim (50 cm) i dłuższym (384 cm) rdzeniu. Doktorantka wykazała, że stężenia karotenoidów mają trzy maksima sugerujące, że zakwity cyjanobakterii zdarzały się również w czasach historycznych. Są to: maksimum w okresie Morza Lityrnowego (~ 2500 r. p.n.e.), podczas tzw. Ocieplenia Rzymskiego (pomiędzy 500 r. p.n.e. a 400 r. n.e.) oraz w ostatnich latach. Stosunek molowy echinenonu do chlorofilu-c (Echin/Chls-c) został z sukcesem zaproponowany jako wskaźnik zmian w dominacji cyjanobakterii i organizmów zawierających chlorofil-c, głównie okrzemek.

Podobnie, jak w publikacji drugiej, karotenoidy stanowią jedynie część analizowanych pigmentów, a doktorantka nie deklaruje w dołączonym oświadczeniu stopnia swego udziału w pisaniu manuskryptu. Ponieważ jednak jest drugą autorką (z jedenastu), wykonywała analizy karotenoidów oraz interpretowała uzyskane wyniki, a obszerny rozdział 4.3 *Cyanobacterial blooms* powstał, jak się łatwo domyśleć, dzięki jej badaniom, przyjmuję, że rola Doktorantki w powstaniu tej pracy była znacząca.

### **Zastrzeżenia ogólne**

Pomimo, że dobrze oceniam całości rozprawy pewne zagadnienia wydają się być słabiej przedstawione. Pytania, jakie nasuwają się przy czytaniu pracy dotyczą przede wszystkim trwałości badanych pigmentów w osadach starszych, podlegających bardziej zaawansowanym procesom diagenety. Brakuje na przykład informacji, jak długo karotenoidy zachowują swój potencjał poznawczy (dobry stan zachowania) w osadzie, i jakie jest tempo ich degradacji? Czy pigmenty zachowane w osadach młodszych powierzchniowych można bezpośrednio porównywać pod względem ilościowym i jakościowym z tymi z osadów starszych, pogrzebanych na głębokości kilkuset metrowych, których wiek wynosi nawet kilka tysięcy lat? Jakie czynniki wpływają szczególnie destrukcyjnie na stan ich zachowania? Wydaje mi

się, że materiały jakimi dysponuje doktorantka dają podstawę do rozważań na taki temat. Część tych informacji pojawia się rozproszone w publikacjach, ale w stopniu, dla recenzenta, niesatysfakcjonującym.

### **Współautorstwo i cytowania**

Wszystkie publikacje są we współautorstwie i liczą od 3 do 11 współautorów. W czterech pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, w dwóch drugim, zaś w trzech autorem korespondencyjnym. Na końcu pracy znajduje się 25 opisowych oświadczeń współautorów o ich udziale w przygotowaniu publikacji składających się na rozprawę. Wartości procentowych udziału nie podano. W przypadku publikacji z większą liczbą autorów oświadczenia złożyli tylko główni autorzy. Z oświadczeń Doktorantki wynika, że brała ona udział w rejsach i pobieraniu próbek, analizie karotenoidów i interpretacji uzyskanych wyników, współtworzyła koncepcje prac naukowych, przygotowywała niektóre figury graficzne i wykonywała analizy statystyczne oraz uczestniczyła w pisaniu manuskryptów.

Jeśli rozprawa jest pracą zbiorową, Ustawa nakłada na recenzenta obowiązek oceny indywidualnego wkładu kandydata w powstanie danej pracy. W tym przypadku jest to niezwykle trudne, ponieważ wkład doktorantki jest w sferze interpretacyjnej ściśle powiązany z wkładem innych współautorów. Po zapoznaniu się z treścią wszystkich publikacji można się łatwo zorientować, że karotenoidy stanowią główną, bądź co najmniej istotną, część przedstawionych artykułów. Jestem przekonana, że udział Doktorantki w ich powstawaniu był kluczowy, a w niektórych pracach zdecydowanie dominujący, co według mnie całkowicie upoważnia Doktorantkę do przedstawienia ich jako części rozprawy doktorskiej.

Wszystkie publikacje doktorskie (poza tegoroczną) zdobyły już cytowania i są rozpoznawane w środowisku międzynarodowym. Najwięcej cytowań - 16 (stan z 27 sierpnia 2020r.) zdobyła praca z 2017 r. *Tracking trends in eutrophication based on pigments in recent coastal sediments* (Oceanologia), następną jest *Algal pigments in Hornsund (Svalbard) sediments as biomarkers of Arctic productivity and environmental conditions* z 5 cytowaniami, zaś pozostałe prace zdobyły po 4 i 3 cytowania.

## Podsumowanie

Przedłożona praca doktorska stanowi obszerne studium zapisu w osadzie pigmentów cyjanobakteryjnych, karotenoidów oraz innych pigmentów z płytkich osadów Zatoki Gdańskiej i wybranych fiordów norweskich. Doktorantka w rozprawie doktorskiej wykazała, że karotenoidy są cennym źródłem wiedzy o stanie troficznym Zatoki Gdańskiej w czasach historycznych, w tym o intensywności zakwitów sinicowych na przestrzeni ostatnich kilku tysięcy lat. Ponadto wykazała, że karotenoidy mogą być wskaźnikami składu taksonomicznego fitoplanktonu w osadach morskich; mogą też być stosowane jako wskaźniki paleośrodowiskowe pomocne przy rekonstrukcji czasowych zmian w składzie fitoplanktonu. Pośrednio, mogą być zastosowane do rekonstrukcji paleoklimatycznych. Badania mgr inż. Magdaleny Krajewskiej obejmują szeroki i zróżnicowany pod względem klimatycznym obszar dzięki czemu Doktorantka uzyskała możliwość porównania uzyskanych wyników z odmiennych stref klimatycznych. Jest to ważne zwłaszcza w kontekście produkcji pierwotnej związanej z systematycznym podnoszeniem się średnich rocznych temperatur globalnych. Dzięki swoim badaniom wykazała dynamikę zmian w składzie fitoplanktonu. Dużą wartość pracy stanowi fakt, że większość analiz została przeprowadzona kompleksowo, a połączone wyniki otrzymane z analizy różnych elementów składowych osadu dały stosunkowo pełen obraz historii troficznej Zatoki Gdańskiej i fiordów norweskich.

Podsumowując, uważam, że mgr inż. Magdalena Krajewska dobrze wywiązała się za swojego zadania, jednocześnie wyraźnie rozwijając swój warsztat naukowy. Przedstawione w ocenianej rozprawie wyniki pracy uważam za bardzo wartościowe i wzbogacające wiedzę na temat przemian klimatycznych i zakwitów fitoplanktonu w kolumnie wody w Zatoce Gdańskiej, fiordach Oslo i na obszarze Arktycznym (fiordy Spitzbergenu) w ostatnich stuleciach. Stwierdzam, że rozprawa doktorska **mgr inż. Magdaleny Krajewskiej pod tytułem *Karotenoidy w osadach jako wskaźniki zmian zachodzących w środowisku morskim*** stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i w pełni spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określonym w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595, z 2003 r. z późn. zmian.) i wnoszę o dopuszczenie jej do dalszych etapów obrony.



Jednocześnie wnioskuję o przyznanie wyróżnienia przedłożonej pracy. Na wyróżnienie zasługuje zaprezentowany w pracy wysoki poziom badań z zakresu biogeochemii środowiska morskiego, w tym zaprojektowanie metodyki badawczej do rozwiązania postawionych w pracy problemów, wnikliwość w interpretacji uzyskanych wyników, które mają wysokie walory poznawcze w zakresie badań nad eutrofizacją Zatoki Gdańskiej oraz aż sześć składających się na rozprawę artykułów opublikowanych w większości w pismach o wysokiej międzynarodowej randze potwierdzonej dobrym współczynnikiem oddziaływania (sumaryczny IF=13,366). W mojej ocenie jest to wynik wyraźnie ponadprzeciętny.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'L. Kowal', with a long horizontal flourish extending to the right.