



Zakład Hydrobiologii
Instytut Biologii Funkcjonalnej i Ekologii
Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego
Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych
ul. Żwirki i Wigury 101, 02-089 Warszawa
tel.: 22 55 26 518 fax: 22 55 26 575

Warszawa, 5 lutego 2021 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr Michała Czuba pt. „Effects of sea-dumped chemical warfare on Baltic Sea ecosystem”.

Od zakończenia II Wojny Światowej minęło już niemal 76 lat, trzy ludzkie pokolenia, ale ekonomiczne, polityczne i psychologiczne konsekwencje tego gigantycznego kataklizmu ciągle wpływają na współczesną historię świata. Paradoksalnie, część ponurej spuścizny tej wojny dopiero od niedawno stała się rzeczywistym zagrożeniem dla ludzi i dla przyrody – z pewnością dotyczy to zapasów (szczęśliwie) niewykorzystanych Bojowych Środków Trujących (BST), lekkomyślnie, czy raczej bezmyślnie, zatapianych w morzach i oceanach, także w Bałtyku. Jak szacowano po wojnie szczelność wrzucanych do morza pojemników z BST miła opierać się korozji przez mniej więcej 70 – właśnie minionych – lat. Stoimy zatem wobec problemu rychłego, lub już trwającego uwalniania zawartości zdeponowanej na dnie morza broni chemicznej na wielką skalę i sprawą nadzwyczaj aktualną staje się ocena zagrożeń z tym związanych. Pan mgr Michała Czuba podejmuje to wyzwanie w swej rozprawie doktorskiej. Stanowi ona zbiór trzech powiązanych tematycznie, oryginalnych publikacji naukowych, które ukazały się ostatnio w międzynarodowych czasopiśmie specjalistycznych z „Listy filadelfijskiej” *Science of The Total Environment* (5-letni IF – 5,90), *Marine Environmental Resesarch* (5-letni IF – 3,42) i *Environmental Pollution* (5-letni IF – 5,95). Ranga tych czasopism zdecydowanie zasługuje na uznanie. Wspomniany zbiór prac poprzedzony został bardzo przejrzystym napisanym 7. stronicowym Abstraktem i jego blisko 10. stronicowym polskim odpowiednikiem, zawierającym dosyć ogólnikowo sformułowany cel badań, którym jest weryfikacja hipotezy, że "zatopiona broń chemiczna implikuje negatywne skutki na ożywione elementy ekosystemu Morza Bałtyckiego", a także najistotniejsze wyniki i zasadniczych wnioski zawarte w tych pracach. Wszystkie publikacje są wieloautorskie (publikacja 1 - 11 autorów, publikacja 2 - 10 autorów,

publikacja 3 - 8 autorów) a Doktorant jest pierwszym i korespondencyjnym autorem pierwszej i drugiej publikacji, a drugim autorem trzeciej. Zamieszczone w Rozprawie deklaracje Doktoranta i wszystkich pozostałych autorów potwierdzają dominującą, lub co najmniej istotną rolę Pana Michała Czuba w sformułowaniu koncepcji badań, bardzo znaczący udział doborze metodyki i realizacji eksperymentów, opracowaniu wyników i wreszcie w pisaniu i finalnej edycji manuskryptów. Warto tu zwrócić uwagę, że charakter badań ujętych we wszystkich trzech pracach właściwie zupełnie wyklucza ich indywidualną realizację - dotyczy to zarówno abiotycznej i biotycznej charakterystyki wybranych obszarów Bałtyku, niemożliwej do "jednoosobowego" przeprowadzenia jak i - a może przede wszystkim - badań eksperymentalnych z użyciem Bojowych Środków Trujących, bądź ich pochodnych. Badania takich substancji obwarowane są oczywistymi restrykcjami i ich prowadzenie nie jest możliwe poza autoryzowanymi laboratoriami Wojskowej Akademii Technicznej i bez udziału zatrudnionego tam, uprawnionego personelu naukowego.

Pierwsza z prac ujętych w Rozprawie (Czub *et al.* 2018. *Deep see habitats in the chemical warfare dumping areas of the Baltic Sea. Science of The Total Environment: 616-617:1485-1497*) zawiera charakterystykę biotopów i biocenoz - przede wszystkim bentosowych - trzech bałtyckich Głębi (Bornholmskiej, Gdańskiej i Gotlandzkiej), które znane są jako miejsca masowej depozycji BST po II Wojnie Światowej. Przedstawione tu badania prowadzono w ciągu pięciu lat (2012-2017), co szczęśliwie pozwoliło uchwycić efekty masywnego wlewu dobrze natlenionych i zasolonych wód Morza Północnego, rzadkiego (średnio raz na dekadę) ale ważnego zjawiska hydrologicznego znacząco wpływającego na warunki środowiskowe w bentalu Bałtyku, które wydarzyło się w 2014 roku. Na szczególnie pozytywne podkreślenie zasługuje imponującą różnorodność metodyczną tej pracy, a zwłaszcza prowadzonej *in situ* analizy instrumentalnej obejmującej wykorzystanie różnego typu urządzeń akustycznych (sonar, profiler poddenny) oraz autonomicznych i zdalnie sterowanych robotów podwodnych wyposażonych w kamery, nie wspominając o bardziej standardowych narzędziach do analiz chemicznych i fizycznych właściwości wody, pobierania i analizy próbek dna i wreszcie - modelowaniu. Badania te potwierdziły obecność amunicji chemicznej na i pod powierzchnią osadów dennych we wszystkich 3 lokalizacjach. Obszary te charakteryzowały się ubóstwem fauny bentosowej (wyjąwszy nicienie) i ryb, wynikającym zapewne z utrzymującej się tam hipoksji; jedynie w Głębi Bornholmskiej różnorodność biologiczna makrobentosu i ryb dramatycznie wzrosła niespełna rok po wlewie natlenionych wód Morza Północnego (tj. w 2015 r.). Paradoksalnie "pustynie tlenowe" w Głębiach, obejmujące główne rejony zatapiania BST, izolują potencjalnie skażone obszary dna od biocenoz bałtyckich i być może ich

występowanie - skądinąd niechlubny efekty antropogenicznej eutrofizacji - zapobiega znaczniejszemu skażeniu zwierząt bezkręgowych i ryb bytujących w przydennych warstwach wody, takich jak dorsz i stornia. Co ciekawe, mimo ubóstwa ryb i skądinąd formalnych zakazów połowów dno badanych głębi pełne jest śladów trałowania, widocznych na zamieszczonych w pracy obrazach powierzchni osadów wykonanych przez sonar wysokiej rozdzielczości. Trałowanie może być istotnym czynnikiem dyspersji BST poza obszar składowania, a także może sprzyjać uwalnianiu BST z rozpadających się pojemników.

Druga praca (Czub et al. 2020. *Acute aquatic toxicity of sulfur mustard and its degradation products to Daphnia magna. Marine Environmental Research. 161, 105077*) podejmuje kwestie oceny toksyczności ostrej jednego z najczęściej produkowanych BST - iperytu siarkowego i sześciu jego pochodnych - w środowisku wodnym. Rzecz nie jest oczywista, bowiem iperyt jest słabo rozpuszczalny w wodzie, a frakcje już rozpuszczone podlegają bardzo szybkiej hydrolizie (czas półrozpadu w wodzie poniżej 10 minut), której bezpośredni produkt jest nietoksyczny. Tego rodzaju właściwości iperytu bywały używane do przedstawiania procedury jego zatapiania w morzu jako bezpiecznej metody utylizacji. Badania Doktoranta podważają tego rodzaju twierdzenia: niektóre dalsze produkty degradacji iperytu są znacznie lepiej rozpuszczalne w wodzie i bardziej toksyczne niż sam iperyt i to już w stężeniach notowanych w osadach dennych i wodzie interstycjalnej w Bałtyku.

Nieco kontrowersyjny - zważywszy na środowisko morskie, którego dotyczy rozprawa - mógłby wydawać się dokonany przez Doktoranta wybór słodkowodnej, fakultatywnie partenogenetycznej wioślarki *Daphnia magna* jako organizmu użytego w testach toksyczności BST. Jest jednak wiele bardzo dobrych argumentów na rzecz wykorzystania tego właśnie organizmu testowego, które zresztą Doktorant wymienia w abstrakcie Rozprawy. Przede wszystkim, *D. magna* jest powszechnie stosowana w testach toksykologicznych zgodnych z międzynarodowymi standardami Organizacji Współpracy Gospodarczej i Rozwoju (OECD). Literatura dotycząca określania toksyczności ostrej najrozmaitszych związków chemicznych przy pomocy metodyki OECD z użyciem *D. magna* jest wręcz gigantyczna i istnieją formalne kryteria kategoryzacji ich toksyczności (silnie toksyczne, toksyczne, potencjalnie szkodliwe itd.). Dzięki temu Doktorant mógł dokonać porównawczej oceny zagrożeń związanych z BST na tle innych ksenobiotyków pojawiających się w środowisku i według wspomnianych kryteriów zaliczył rozpuszczony iperyt siarkowy do kategorii "substancji toksycznych". Warto zwrócić uwagę, że wybrany do testów klon (genotyp) *D. magna* wyizolowany został z populacji zasiedlającej słonawe Grosser Binnensee, przymorskie

jezioro w Szlezwiku-Holsztynie, gdzie gatunek ten dominuje w zooplanktonie podczas i po sporadycznych wlewach wód bałtyckich (Ortels, Reusch i Lampert, 2005. *Oecologia* 143: 509–516). Wybór organizmu testowego nie był więc przypadkowy, a kontakty z wodą Bałtyku zdarzały się w (mikro)ewolucyjnej historii użytych w badaniach *Daphnia*. Trudno zatem z metodologicznych pozycji podważać konkluzje Pana mgr M. Czuba płynące z przedstawionych w omawianej pracy badań, a dotyczące zagrożeń dla biocenozy Bałtyku powodowanych przez zatopione BST.

Oczywiście - jak zauważa Doktorant - poznanie toksyczności ostrej, przydatne w kategoryzacji zagrożeń związanych z obecnością rozmaitych ksenobiotyków nie wystarcza do oceny ich wpływu na funkcjonowanie całych ekosystemów i populacji żyjących w nich organizmów. W warunkach naturalnych organizmy te rzadko, lub wręcz nigdy nie spotykają się z bezpośrednio letalnymi stężeniami potencjalnie toksycznych substancji, także BST, mogą natomiast doświadczać chronicznej ekspozycji na śladowe ich koncentracje w środowisku. Trzecia praca w zbiorze stanowiącym rozprawę (*Brzeziński, Czub et al. 2020. The effects of chemical warfare agent Clark I and stable isotopes composition of Daphnia magna. Environmental Pollution* 266, 115142.) podejmuje właśnie kwestię długotrwałego wpływu subletalnych stężeń difenylchloroarsyny znanej jako Clark I, jednego z najczęściej spotykanych w osadach bałtyckich BST, na historię życia trzech klonów (genotypów) *Daphnia*, wyizolowanych z różnych, wzajemnie odległych lokalizacji (Grosser Binnensee, permanentny Novy Rvensky Rybnik w Czechach i okresowo zalewany staw parkowy w Warszawie). Okazuje się, że Clark I istotnie wpływa na parametry określające dostosowanie (*fitness*) wioślarek, tj. tempo wzrostu osobniczego, wielkość przy pierwszej reprodukcji i wewnętrzne tempo wzrostu populacji (*r*), w stężeniach niższych od notowanych w osadach Morza Bałtyckiego w rejonach składowania BST. Jest to bardzo ważne spostrzeżenie, oznacza bowiem, że już obecnie uwalniające się do wód Bałtyku BST mogą, przynajmniej lokalnie, znacząco wpływać na dynamikę populacji skorupiaków planktonowych. Co więcej BST mogą wpływać na strukturę genetyczną populacji - wykazano w pracy, że różne klony (genotypy) *Daphnia* odmiennie reagują na obecność śladowych ilości Clark I w wodzie. Ekologiczne i (mikro)ewolucyjne konsekwencje tego genetycznego zróżnicowania wrażliwości na BST są dobrze przedyskutowane w pracy. Może najbardziej odkrywczym elementem omawianej publikacji jest odkrycie wpływu Clark I na stosunki ilościowe stabilnych izotopów azotu w ciałach badanych wioślarek. Obserwacja ta po pierwsze potwierdza dość fundamentalny wpływ Clark I na procesy metaboliczne u *Daphnia*, przede wszystkim jednak ma potencjalne aplikacyjne konsekwencje. Być może analizy sygnatur

izotopowych skorupiaków (a być może także ryb i innych elementów biocenozy morskich) mogą być wykorzystane do opracowania wiarygodnych wskaźników skażeń wód bojowymi środkami trującymi. Trzeba byłoby jednak najpierw wykazać, że zmiany proporcji izotopów azotu są specyficzną odpowiedzią na obecność BST, a nie na przykład generalną reakcją organizmu na stres.

Jeżeli miałbym wskazać jakieś słabsze strony recenzowanej rozprawy, to zwróciłbym uwagę na jej w zasadzie czysto opisowy charakter. Uwaga ta odnosi się co prawda głównie do pierwszej ze stanowiących rozprawę publikacji, która jest opisowa z natury rzeczy, ale jednak także do dwóch pozostałych prac eksperymentalnych. Przedstawione w nich badania nie zostały wybudowane wokół jakichś *explicite* sformułowanych hipotez, zgodnie z regułami falsyfikacjonizmu, lecz raczej zmierzały do wyznaczenia jakiejś progowej koncentracji (np. EC_{50}), określenia zmian fizjologicznych (np. tempa wzrostu organizmów) wywołanych działaniem jakiegoś czynnika itd. Tego rodzaju podejście jest oczywiście całkowicie zrozumiałe w badaniach ekotoksykologicznych, czy aplikacyjnych, ale nie wystarcza, by ocenić zdolności Doktoranta do formułowania i testowania hipotez naukowych.

Moja ogólna ocena zbioru prac stanowiących rozprawę doktorską Pana mgr Michała Czuba jest zdecydowanie pozytywna. Są to bardzo dobre publikacje, konsekwentnie ułożone w logiczną całość: od charakterystyki najbardziej narażonych środowisk - trzech Głębi Bałtyckich z zalęgającą na dnie korodującą amunicją chemiczną, przez charakterystykę toksyczności zdeponowanych na dnie BST i określenie ich miejsca w hierarchii zagrożeń związanych ksenobiotykami w środowisku wodnym, po wskazanie na możliwe konsekwencje kontaktu elementów biocenozy wodnych z ekologicznie realistycznymi stężeniami bojowych środków trujących. Prace te niosą wiele nowych dla nauki informacji, a ich znacznie jest szczególnie duże wobec aktualności recenzowanych badań: problem uwalniania BST do środowiska Bałtyku - i zapewne większości innych akwenów w podobnym czasie obciążonych ładunkami niewykorzystanej broni chemicznej - już jest poważny i będzie w sposób nieunikniony narastał w nadchodzących latach, w wyniku postępującej degradacji zdeponowanych na dnie pojemników z BST. Wieloautorski charakter zawartych w Rozprawie publikacji, nie do uniknięcia w tego rodzaju badaniach jak już wspomniałem na wstępie, dowodzi pewnych szczególnych, ale ważnych w nauce "miękkich" kompetencji Doktoranta: umiejętności kierowania zespołem badaczy realizujących wspólny projekt i może przede wszystkim - zdolności do nawiązywania kontaktów i przyciągania kompetentnych współpracowników z grup badawczych spoza macierzystej instytucji. Wreszcie, *last but not*

least, Pan mgr M. Czub jest już współautorem łącznie 9 "indeksowanych" publikacji, cytowanych wg. SCOPUS 157 razy - dla badacza na tym etapie kariery jest to wręcz znakomity "parametryczny" dorobek, odpowiadający w Polsce raczej poziomowi habilitacji niż doktoratu.

Wobec powyższego stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny dysertacja Pana mgr Michała Czuba spełnia formalne i merytoryczne wymagania stawiane pracom doktorskim zgodnie z Ustawą z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach i tytułach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami) oraz z rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dn. 22 września 2011 r. (Dz. U. nr 204, poz. 1200) i wnoszę o dopuszczenie Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, w uznaniu dla ponadprzeciętnych walorów naukowych rozprawy wnoszę o jej wyróżnienie stosowną nagrodą.



Prof. dr hab. Piotr Dawidowicz