



Poznań, 10 lutego 2025 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Drewek
pt. „ Reakcje małży Unionidae na nowe rodzaje zanieczyszczeń wód. Potencjalne
wykorzystanie małży w systemach wczesnego ostrzegania przed zanieczyszczeniami.”**

Wraz z rozwojem cywilizacyjnym i postępem technologicznym pojawiają się nowe rodzaje zanieczyszczeń wód powierzchniowych, takie jak farmaceutyki, mikroplastik, pestycydy czy substancje per- i polifluoroalkilowe. Związki te, często trudne i kosztowne do wykrycia tradycyjnymi metodami analitycznymi, stanowią poważne zagrożenie dla ekosystemów wodnych i zdrowia człowieka. Ich obecność w środowisku wymaga opracowania nowoczesnych metod monitoringu jakości wody, które będą w stanie szybko i precyzyjnie identyfikować nawet śladowe ilości szkodliwych substancji. Jednym z obiecujących kierunków jest wykorzystanie organizmów wskaźnikowych, takich jak glony, małże czy ryby, które reagują na zmiany w środowisku wodnym, pełniąc rolę naturalnych bioindykatorów. Dzięki integracji metod biologicznych z zaawansowanymi technologiami analitycznymi możliwe jest nie tylko wykrywanie zanieczyszczeń, ale także ocena ich wpływu na organizmy żywe, co przyczynia się do skuteczniejszej ochrony zasobów wodnych.

W potrzebę poszukiwania tego typu rozwiązań wpisuje się przedstawiona mi do recenzji praca doktorska mgr Agnieszki Drewek, której promotorem jest dr hab. Piotr Klimaszyk, prof. UAM. Praca ta ma charakter interdyscyplinarny, gdyż łączy zagadnienia z pogranicza ekologii, biochemii i toksykologii. Jej celem było określenie wpływu wybranych zanieczyszczeń na organizmy małży oraz analiza możliwości wykorzystania tych zwierząt w systemach biomonitoringu jakości wód. Autorka skupiła się na trzech grupach zanieczyszczeń: farmaceutykach (niesteroidowe leki przeciwzapalne i paracetamol), koagulantach żelazowych wykorzystywanych niekiedy w rekultywacji jezior oraz herbicydach zawierających glifosat jako substancję czynną. Ich wybór jest o tyle ciekawy i wartościowy, iż różnią się one budową chemiczną, a ich podwyższone stężenia w wodzie mogą być rezultatem odmiennych zjawisk i źródeł. Przedmiotem badań były reakcje

behawioralne oraz biochemiczne małży z rodziny Unionidae (skójkowate) na obecność tych substancji w środowisku wodnym. Dobór organizmów do badań tego typu jest jak najbardziej prawidłowy, gdyż w przeszłości małże z tej rodziny z powodzeniem wykorzystano do wykrywania niekorzystnych zmian fizyko-chemicznych wody w systemach biomonitoringu. Polska jest jednym z liderów w wykorzystaniu małży do biomonitoringu wody pitnej, stosując je w kilkudziesięciu zakładach wodociągowych w kraju, monitorując jakość wody dla milionów ludzi. Systemy biomonitoringu z wykorzystaniem małży są energooszczędne i przyjazne dla środowiska. Wymagają minimalnej ingerencji technologicznej, co czyni je zrównoważonym rozwiązaniem w porównaniu z innymi metodami monitoringu. Doktorat mgr Agnieszki Drewek jest więc próbą potencjalnego rozszerzenia wykorzystania małży w wykrywaniu nowych zagrożeń w wodzie pitnej, a zatem poza znaczeniem poznawczym dla nauk podstawowych, miał mieć również możliwy charakter aplikacyjny, co również zasługuje na podkreślenie.

Autorka podzieliła treść dysertacji na 8 rozdziałów (1. streszczenie, 2. abstract, 3. wykaz publikacji będący podstawą rozprawy doktorskiej 4.wstęp, 5. metodyka badań, 6. Wpływ niesteroidowych leków przeciwzapalnych i paracetamolu na reakcję behawioralną małży z rodziny Unionidae, 7. Wpływ koagulantu żelazowego na behavior, stechiometrię chemiczną i biochemię małży z rodziny Unionidae, 8. Behawioralne i biochemiczne efekty herbicydu Roundup opartego na glifosacie na małże z rodziny Unionidae), zamieściła w niej też bibliografię oraz dwie publikacje, z których każda opisuje część wykonanych w ramach realizacji doktoratu badań. W rozdziałach od 6 do 8 Autorka ponownie zamieściła wstęp i metodykę badań, a następnie wyniki i dyskusję. Taki podział organizacyjny pracy doktorskiej budzi moje wątpliwości. Moim zdaniem bardziej zasadnym byłoby podzielenie treści pracy w sposób klasyczny na wstęp, metodykę pracy, wyniki, wnioski oraz dyskusję.

Pierwsza publikacja stanowiąca podstawę rozprawy, opublikowana na łamach *Journal of Environmental Management*, skupiła się na analizie wpływu koagulantu żelazowego (FeCl_3), stosowanego w rekultywacji jezior, na behavior filtracyjny oraz reakcje biochemiczne małży. Na szczególną uwagę zasługuje zastosowana metodologia monitorowania aktywności filtracyjnej badanych małż, która cechuje się wysoką innowacyjnością, wykorzystując czujnik Halla do nieinwazyjnego, precyzyjnego śledzenia zmian pola magnetycznego. Zastosowano również metodę pomiaru sygnału elektrycznego o wysokiej częstotliwości (120 kHz) i zmiennym napięciu, które jest proporcjonalne do odległości między połowami muszli. Dzięki temu uzyskano zwiększoną dokładność pomiarów. Warto podkreślić, iż dane dotyczące stopnia otwarcia muszli były rejestrowane

niemal w sposób ciągły, co 30 sekund. W założeniu metodologicznym nie zapomniano o konieczności adaptowania osobników do warunków badawczych oraz 24-godzinnej kalibracji, która pozwoliła na dostosowanie pomiarów do indywidualnych cech każdej małży, eliminując błędy wynikające z różnic morfologicznych czy fizjologicznych pomiędzy osobnikami. W związku z tym praca ta ma nie tylko aspekt poznawczy, związany z wpływem koagulantów na małże, ale może być także inspirująca z metodologicznego punktu widzenia dla innych badaczy. W momencie sporządzania tej recenzji, była cytowana 5-krotnie wg bazy Scopus i 7-krotnie wg bazy Google Scholar.

W przeprowadzonym badaniu stwierdzono znaczące ograniczenie aktywności filtracyjnej małży wraz ze wzrostem stężenia koagulantu, a zaobserwowane zmiany w stechiometrii chemicznej tkanek sugerowały zwiększoną akumulację żelaza oraz zmniejszenie zawartości fosforu. Z kolei zwiększona aktywność biomarkerów stresu oksydacyjnego wskazywała na niekorzystny wpływ koagulantu na fizjologię małży. Przeprowadzone badania dostarczają istotnych wyników, które potwierdzają, że koagulanty żelazowe mogą negatywnie wpływać na organizmy filtrujące, co powinno być uwzględniane przy planowaniu rekultywacji jezior, poprzez odpowiednią analizę korzyści i ryzyka, na wzór interwencji medycznych. Z uwagi na popularność koagulantów żelazowych w rekultywacji jezior, m.in. w Polsce, oraz ich częste stosowanie w obrębie tych samych zbiorników, warto byłoby w przyszłości przeprowadzić analizy długoterminowego narażenia małży na koagulanty, co mogłoby pozwolić na lepsze zrozumienie ich wpływu na populację małży, a także występowanie potencjalnych mechanizmów adaptacyjnych, które mogłyby zminimalizować negatywny efekt koagulantu w dłuższej perspektywie. Przeprowadzone badania są zatem bardzo dobrym przyczynkiem dla kolejnych analiz, co jest wartością samą w sobie. Moją jedyną wątpliwość wzbudziła rozbieżność temperatur podczas adaptacji małży warunków laboratoryjnych (18 st. C) i podczas eksperymentu (16 st. C), choć być może jest to różnica nieistotna z fizjologicznego punktu widzenia.

Z kolei druga publikacja, która ukazała się w czasopiśmie *Water*, skupiła się na zrozumieniu czy małże z rodziny Unionidae można by wykorzystać do monitorowania wzrostu stężenia herbicydów opartych o glifosat. Na uwagę zasługuje fakt, iż jest to czasopismo publikujące w otwartym dostępie, co zwiększa jej widoczność dla innych badaczy. W przeprowadzonym badaniu zaobserwowano, iż ekspozycja na taki herbicyd skutkowałą redukcją aktywności filtracyjnej małży już przy niewielkich dawkach środowiskowych. Efekt ten był krótkotrwały, a intensywność reakcji nie osiągała poziomu uznawanego za alarmowy w systemach biomonitoringu. Z kolei wzrost poziomu stresu

oksydacyjnego u badanych osobników sugerował negatywny wpływ herbicydu, choć różnice nie były statystycznie istotne. Przeprowadzone badania wskazują zatem, iż małże skójkowate mogą służyć jako bioindykatory zanieczyszczenia herbicydami opartymi o glifosat, jednak ich reakcja na niskie dawki może być niewystarczająca do zastosowania w systemach wczesnego ostrzegania. W mojej opinii ciekawe byłoby poszerzenie analizy o ewentualną kumulację glifosatu w tkankach małży, co mogłoby wykazać czy krótkoterminowe narażenie tych zwierząt na herbicyd może skutkować jego włączeniem do łańcucha troficznego. Nie zmienia to faktu, iż praca wartościowe nowe dane, także z punktu widzenia toksycznego wpływu glifosatu na organizmy żywe, w tym przypadku słodkowodne małże.

Trzecia seria badań, która została szczegółowo opisana, ale jeszcze nie opublikowana na łamach recenzowanego czasopisma, dotyczyła reakcji małży na obecność niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ), takich jak diklofenak i ibuprofen, oraz paracetamolu. To leki powszechnie wykorzystywane w populacji ludzkiej, których pozostałości stwierdza się w ściekach nieoczyszczonych, oczyszczonych i wodach powierzchniowych. Ich dobór do badania jest zatem jak najbardziej właściwy, a podjęta przez Doktorantkę tematyka ważna i aktualna. W opisie metodologicznym tej serii eksperymentów zabrakło wyjaśnienia, jaka była wielkość i masa małży, które podawano przy opracowaniu pozostałych wyników ujętych w dysertacji. Cechy te mogą potencjalnie wpływać na wrażliwość małży na czynniki środowiskowe. Ponadto zarówno przy opisie tej części eksperymentów jak i pozostałych nie wyjaśniono w jaki sposób uśmiercano małże, prosiłabym więc Doktorantkę o wyjaśnienie tej kwestii podczas obrony. Przeprowadzone badania wskazują, iż aktywność filtracyjna małży zmniejszyła się podczas długotrwałej ekspozycji na wysokie dawki NLPZ. W badanych warunkach reakcje behawioralne nie były wystarczająco intensywne, by umożliwić skuteczne wykorzystanie małży w systemach detekcji zanieczyszczeń farmaceutycznych. Nie wykazano istotnych różnic między reakcją gatunków rodzimych (*Anodonta anatina*, *Unio tumidus*) a inwazyjnym *Sinanodonta woodiana*. Ponownie zatem stwierdzono, iż zanieczyszczenie wód badanymi farmaceutykami może wpływać na funkcjonowanie populacji małży, jednak skuteczność ich wykorzystania jako biomonitorów tych substancji jest ograniczona. Warto zauważyć, iż zanieczyszczenie środowiska i wód powierzchniowych związkami chemicznymi pochodzenia farmaceutycznego na ogół wiąże się ze współwystępowaniem różnych substancji tego typu. W pracy nie badano co prawda ich równoczesnego wpływu na małże, nie można jednak wykluczyć, iż mieszanina badanych leków mogłaby, na skutek efektów addytywnych, wywołać reakcje małży o sile istotnej dla biomonitoringu, zarazem utrudniając jednak jednoznaczne określenie specyficzności takich reakcji. Nie zmienia to jednak faktu, iż

przeprowadzona analiza wnosi istotny wkład w ocenę wpływu farmaceutyków na organizmy wodne, spełniając ważną rolę filtratorów, podkreślając zagrożenia wynikające z obecności tych substancji w środowisku, a zarazem krytycznie weryfikując możliwość wykorzystania małży w biomonitoringu farmaceutyków. Uzyskane wyniki są więc cennym punktem wyjścia do dalszych badań nad złożonym oddziaływaniem farmaceutyków i ich mieszanin na organizmy wodne oraz potencjalnym zastosowaniem małży w monitorowaniu jakości wód, w tym przeznaczonych do spożycia.

Z obowiązku recenzenta muszę również wymienić pewne mankamenty związane z prezentacją wyników w niektórych częściach dysertacji doktorskiej.

W części prezentującej wyniki dotyczące wpływu środków farmaceutycznych na behavior małży Autorka zdecydowała się na przedstawienie wyników ich działania w różnych stężeniach w osobnych podrozdziałach, na osobnych rycinach i w tabelach. W moim odczuciu utrudnia to czytelnikowi interpretację wyników, np. obserwacje trendów behavioru małży w zależności od stężeń. Ponadto rysunki zawierające po dwa zdjęcia lub wykresy warto byłoby oznaczyć dodatkowo symbolami a i b. (np. rys.3, str.17, rys. 8 str.28, rys. 19 str.49). W tabelach nr 2 do 37 należałoby dodać jednostkę do wartości średniej (%).

Na str.29 Autorka wspomina o stężeniu 0,3 µg/L, a w rzeczywistości chodzi o stężenie dziesięciokrotnie wyższe.

Z kolei na 105 stronie Autorka pisze, powołując się na prace innych autorów, że *Ekspozycja na mieszaninę POEA i GLY zwiększa zarówno bioakumulację GLY w organizmach wodnych, jak i skalę jego toksycznego działania (Folmar i in. 1979, Annett i in. 2014)*. Następnie stwierdza, iż *W porównaniu z GLY, stężenia śmiertelne (LC50) mieszaniny POEA+GLY są wielokrotnie wyższe dla ryb i płazów (Tresnakova i in. 2021)*, co stoi w sprzeczności z wcześniejszym stwierdzeniem.

Na stronie 38 dysertacji Autorka pisze: *W 32 godzinie po aplikacji substancji średnie otwarcie skorup spadło znacząco osiągając wartości na poziomie 40%. Po tym czasie, po około 40 godzinach od aplikacji PCM średnie otwarcie muszli wzrosło do ponad 50% i utrzymywało się tak przez około 4 godziny*. Wydaje się, że Autorka miała na myśli czas od rozpoczęcia eksperymentu, a nie od aplikacji środków farmaceutycznych, gdyż załączona rycina jednoznacznie wskazuje na 24-godzinny czas inkubacji po aplikacji.

Należy jednak nadmienić, że powyższe uwagi mają w większości charakter drobny i nie wpływają na ogólną ocenę pracy, która moim zdaniem odznacza się wysoką jakością.

Rozprawa doktorska Agnieszki Drewek wnosi istotny wkład do nauki o biomonitoringu i ekotoksykologii. Przedstawione badania dostarczają nowych, cennych informacji na temat reakcji małży na zanieczyszczenia, co może mieć praktyczne znaczenie w ocenie jakości wód. Pomimo pewnych drobnych mankamentów związanych z prezentacją i omówieniem wyników, praca odznacza się wysokim poziomem merytorycznym, dobrze dobraną i innowacyjną metodologią oraz prawidłową interpretacją wyników. Nie ulega więc wątpliwości, iż rozprawa doktorska Pani mgr Agnieszki Drewek spełnia wszystkie warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym stawiane pracom na stopień doktora nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne. Wnoszę więc do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Drewek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Barbara Powiedziatka