

Prof. dr hab. inż. Mikołaj Protasowicki

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny

Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa

KATEDRA TOKSYKOLOGII

ul. Papieża Pawła VI 3

71-459 Szczecin

tel. +48 (0 91) 449-6550

e-mail: Mikolaj.Protasowicki@zut.edu.pl

**Ocena**  
**rozprawy habilitacyjnej**  
**pt. „Wpływ wybranych WWA oraz podwyższonego ciśnienia**  
**hydrostatycznego na wybrane biomarkery w rybach morskich**  
**w eksperymentach laboratoryjnych” oraz całokształtu dorobku**  
**naukowego i organizacyjnego dr Justyny Kopeckiej-Pilarczyk**

Ocena została przeprowadzona na podstawie pisma Dziekana Wydziału Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego informującego o wyznaczeniu mnie na recenzenta przez Centralną Komisję ds. Stopni i Tytułów w związku z postępowaniem o nadanie dr Justynie Kopeckiej-Pilarczyk stopnia doktora habilitowanego. Dokumentacja w formie elektronicznej została przekazana pismem G010-511-560/2012 z dnia 10. kwietnia 2012 roku.

**Dane podstawowe**

Dr Justyna Kopecka-Pilarczyk ukończyła studia na Wydziale Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego w 2000 roku i na podstawie rozprawy pt. „*Czynniki warunkujące rozmieszczenie i właściwości wybranych kwasów humusowych w wybranych głębiach Morza Bałtyckiego*”, której promotorem był prof. dr hab. inż. Janusz Pempkowiak, uzyskała tytuł zawodowy magistra oceanografii. Na podkreślenie zasługuje to, że 5-letni program studiów habilitantka zrealizowała w ciągu 4 lat.

Po uzyskaniu tytułu zawodowego magistra podjęła studia doktoranckie w Instytucie Oceanologii PAN w Sopocie i równocześnie w latach 2002-2004 pracowała na pół etatu w Zakładzie Chemii i Biochemii tego instytutu w zespole prof. dr hab. inż. Janusza Pempkowiaka, pod którego kierunkiem prowadziła badania związane z przygotowywaną rozprawą doktorską. W czasie studiów doktoranckich brała aktywny udział w międzynarodowym projekcie realizowanym przez zespół prof. dr hab. inż. Janusza Pempkowiaka, uczestniczyła w kursach i warsztatach naukowych, w badaniach międzylaboratoryjnych (interkalibracja AChE i EROD), odbyła 11 rejsów badawczych po Bałtyku, trzykrotnie przebywała na stażach naukowych w Hiszpanii (łącznie 11 tygodni), a w okresie od 1.11.2002 do 31.03.2003

roku w ramach stypendium Marie Curie-Skłodowskiej zajmowała się badaniami RT-PCR w Centrum Badań Środowiska UFZ w Lipsku.

Praca w IO PAN, udział w rejsach, staże i badania naukowe w ośrodkach zagranicznych pozwoliły dr Justynie Kopeckiej-Pilarczyk ugruntować wiedzę w zakresie oceanologii oraz opanować nowe metody badawcze dotyczące analiz chemicznych i biochemicznych, w tym metody pomiaru biomarkerów.

Efektem prac prowadzonych pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Janusza Pempkowiaka była rozprawa doktorska pt. „*Wykorzystanie biomarkerów w storni (*Platichthys flesus*) i omułku (*Mytilus trossulus*) z Morza Bałtyckiego do oceny stanu zanieczyszczenia środowiska morskiego*”, która w 2005 roku została przedłożona Radzie Wydziału Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego. Na jej podstawie, po pomyślnej obronie, Rada Wydziału, 1. lipca 2005 roku, nadała dr Justynie Kopeckiej-Pilarczyk stopień naukowy doktora Nauk o Ziemi w zakresie Oceanologii.

Po uzyskaniu stopnia doktora pani Justyna Kopecka-Pilarczyk pracowała jako nauczyciel przyrody w szkole podstawowej, jednak tkwiący w Niej „bakcyl nauki” powodował, że przygotowywała kolejne publikacje i poszukiwała swojego miejsca do pracy badawczej. W efekcie w 2006 roku uzyskała stypendium postdoktoranckie i podjęła pracę w Interdyscyplinarnym Centrum Badań Morskich i Środowiska (CIIMAR) Uniwersytetu w Porto w Portugalii, gdzie pracuje do chwili obecnej.

Zainteresowania wyniesione z okresu studiów, pracy w IO PAN oraz w ośrodkach zagranicznych ukształtowały i ugruntowały tematykę badawczą dr Justyny Kopeckiej-Pilarczyk, która dotyczy oddziaływania czynników antropogenicznych i naturalnych na hydrobionty morskie. Zagadnieniom tym są poświęcone Jej publikacje, w tym artykuły wybrane jako podstawa do nadania stopnia doktora habilitowanego w dyscyplinie oceanologia.

### **Rozprawa habilitacyjna**

Dr Justyna Kopecka-Pilarczyk jako podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego przedstawia 6 publikacji, które stanowią opracowanie tematu „*Wpływ wybranych WWA oraz podwyższonego ciśnienia hydrostatycznego na wybrane biomarkery w rybach morskich w eksperymentach laboratoryjnych*”, a są to:

1. Kopecka-Pilarczyk J., Correia A.D. 2009. Biochemical response in gilthead seabream (*Sparus aurata*) to *in vivo* exposure to a mix of selected PAHs. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72(4), 1296-1302; doi: 10.1016/j.ecoenv.2008.12.003
2. Kopecka-Pilarczyk J., Correia A.D. 2009. Biochemical response in gilthead seabream (*Sparus aurata*) to *in vivo* exposure to pyrene and

- fluorene. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 372, 49-57; doi: 10.1016/j.jembe.2009.02.004
3. Kopecka-Pilarczyk J. 2010. Effect of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons on Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase in juvenile gilthead seabream *Sparus aurata*. *Journal of Fish Biology* 76, 716-722; doi: 10.1111/j.1095-8649.2009.02503.x
  4. Kopecka-Pilarczyk J., Coimbra J. 2010. The effect of elevated hydrostatic pressure upon selected biomarkers in juvenile blackspot seabream *Pagellus bogaraveo* in a 14 day-long experiment. *Journal of Fish Biology* 77, 279-284; doi: 10.1111/j.1095-8649.2010.02651.x
  5. Kopecka-Pilarczyk J., Coimbra J. 2010. Short term high hydrostatic pressure effect on selected biomarkers in silver eel (*Anguilla anguilla*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 391, 118-124; doi 10.1016/j.jembe.2010.06.018
  6. Kopecka-Pilarczyk J., Correia A.D. 2011. Effects of Exposure to PAHs on Brian AChE Gilthead Seabream, *Sparus aurata* L., under Laboratory Conditions. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 86, 379-383; doi: 101007/s00128-011-0234-y

Z powyższego zestawienia wynika, że dr Justyna Kopecka-Pilarczyk 1 pracę opublikowała samodzielnie, 3 wspólnie z Ana Dulce Correia, a 2 z João Coimbra. W załączonej dokumentacji brak jest oświadczeń A.D. Correia, jednak z zamieszczonych na końcu każdego artykułu podziękowań wynika, że jej udział dotyczył projektowania doświadczeń [1] oraz projektowania doświadczeń i wykonania niewielkiej części analiz [2, 3], co wg habilitantki stanowiło odpowiednio 10, 15 i 15% wkładu. Prof. João Coimbra w swoich oświadczeniach stwierdza, że zasugerował temat badań i uczestniczył w bieżącym omawianiu wyników przeglądając wersje robocze artykułów.

Badania habilitantki dotyczyły wpływu wybranych WWA (fenantren, piren, fluoren), pojedynczo i w mieszaninie, oraz ciśnienia hydrostatycznego na biomarkery (EROD, GST, FAC, SOD, CAT, LP, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, AChE) i wskaźniki morfometryczne (CF, HSI) u trzech gatunków ryb.

Wpływ WWA na biomarkery badano eksponując na działanie tych związków młodociane osobniki dorady (*Sparus aurata*), ryba z rodziny prązmowatych (*Sparidae*). W pierwszych dwóch doświadczeniach analizowano 6 biomarkerów (EROD, GST, FAC, SOD, CAT, LP) w wątrobie i oba wskaźniki morfometryczne (CF, HSI) po intoksykacji ryb mieszaniną WWA [1] oraz ekspozycji na piren i fluoren [2]. Uzupełnieniem tych prac było badanie wpływu mieszaniny trzech WWA oraz pojedynczo pirenu i fluorenu na aktywność Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPazy w skrzelach [3] i AChE w mózgu ryb [6]. W badaniach stwierdzono, że przy wzroście stężenia w wodzie mieszaniny 3 WWA oraz pirenu i fluorenu występujących pojedynczo

większość biomarkerów nie wykazuje żadnych statystycznie istotnych zmian, zanotowano jedynie zwiększenie się zawartości związków aromatycznych (FAC) w żółci. Ponadto przy najwyższych stężeniach mieszaniny trzech WWA oraz pirenu i fluorenu zanotowano spadek aktywności EROD, natomiast, tylko przy najwyższych stężeniach fluorenu, zmniejszała się aktywność CAT, a wzrosła aktywność SOD.

Wpływ różnych parametrów ciśnienia hydrostatycznego na zestaw biomarkerów (EROD, GST, SOD, CAT, LP, POx, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, AChE) oraz wskaźników morfometrycznych u ryb badano na młodocianych osobnikach morlesza bogara (*Pagellus bogaraveo*), ryba z rodziny prązmowatych (*Sparidae*), oraz na dorosłych węgorzach (*Anguilla anguilla*), ryba z rodziny węgorzowatych (*Anguillidae*).

U morlesza bogara po 14 dniach ekspozycji na wysokie ciśnienie hydrostatyczne (500 kPa) stwierdzono spadek EROD, a wzrost POx i PY w wątrobie oraz wzrost Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPazy w skrzelach, pozostałe markery nie zmieniły się. Pod wpływem 10-krotnie wyższego ciśnienia hydrostatycznego (5 MPa) u węgorza po 3 dniach ekspozycji zanotowano spadek LP, POx i PY, jednak po 7 dniach wartość POx wzrosła.

Prace przedstawione jako podstawa ubiegania się o stopień doktora habilitowanego stanowią pewną całość, a ich celem było wykazanie, w jakim stopniu i które z zestawu biomarkerów mogą być przydatne w szacowaniu wpływu wybranych WWA (fenantren, piren, fluoren), pojedynczo i w mieszaninie, oraz ciśnienia hydrostatycznego na ryby.

Biomarkery i wskaźniki morfometryczne były i są nadal wykorzystywane w badaniach do szacowania skutków oddziaływania ksenobiotyków i innych czynników na organizmy. Obszerny przegląd badań ichtiofauny związanych z tą problematyką opublikowali van der Oost i współautorzy w 2003 roku. Pomimo to prace habilitantki wnoszą pewne nowe elementy do wiedzy w tym zakresie. Wynika to z faktu uwzględnienia w nich analizy oddziaływania na szeroki zestaw markerów fenantrenu, pirenu i fluorenu – wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, których wpływ na ryby nie był tak powszechnie badany jak w przypadku innych ksenobiotyków. Zaletą tych badań jest przeprowadzenie ich na rybach tego samego gatunku w ściśle kontrolowanych warunkach.

W dostępnym piśmiennictwie znacznie mniej jest publikacji dotyczących wpływu ciśnienia hydrostatycznego na biomarkery u ryb. Wiele problemów nadal wymaga wyjaśnienia i dlatego podjęcie przez habilitantkę badań w tym kierunku uważam za celowe. Szkoda, że te eksperymenty nie były wykonane na rybach tego samego gatunku, co badania oddziaływania WWA i nie były prowadzone w takim samym wymiarze czasowym. Z badań habilitantki wynika jednak, że podwyższone ciśnienie hydrostatyczne wpływa na niektóre markery i wg habilitantki czynnik ten powinien być brany pod uwagę w badaniach terenowych. Pomimo, że w badaniach terenowych takie

podjęcie jest uwzględniane (np. Insausti i in. 2009) sędzę, że interesujące byłoby prześledzenie połączonego oddziaływania ksenobiotyków i ciśnienia hydrostatycznego na biomarkery w ściśle kontrolowanych warunkach laboratoryjnych.

Reasumując w mojej opinii prace dr Justyny Kopeckiej-Pilarczyk przedstawione jako opracowanie tematu „*Wpływ wybranych WWA oraz podwyższonego ciśnienia hydrostatycznego na wybrane biomarkery w rybach morskich w eksperymentach laboratoryjnych*” zawierają oryginalne materiały o charakterze poznawczym, wnoszą nowe informacje i można je przyjąć jako podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

### **Dorobek naukowy**

Habilitantka kontynuuje badania zapoczątkowane w czasie przygotowywania rozprawy doktorskiej. Zainteresowania dr Justyny Kopeckiej-Pilarczyk dotyczą efektów biologicznych wywoływanych w hydrobiontach, głównie w rybach, przez zanieczyszczenia i warunki środowiskowe. Ostatnio we współpracy z innymi naukowcami podjęła też badania wpływu probiotyków w diecie ryb na aktywność enzymów. W badaniach efektów wykorzystuje bogaty zestaw biomarkerów, zwłaszcza tych związanych ze stresem oksydacyjnym. Zagadnieniom tym poświęcone są Jej publikacje.

Przed uzyskaniem stopnia doktora habilitantka opublikowała 3 artykuły naukowe, w tym 1 w czasopiśmie wyróżnionym w Journal Citation Reports (JRC), przedstawiła 18 doniesień w formie posterów oraz wygłosiła 5 referatów na konferencjach międzynarodowych..

Po uzyskaniu stopnia doktora w roku 2005. dr Justyna Kopecka-Pilarczyk powiększyła swój dorobek naukowy o 19 artykułów opublikowanych w czasopismach z tzw. listy filadelfijskiej. Spośród nich 6 zostało wydzielonych jako opracowanie tematu habilitacyjnego. Ponadto na konferencjach nukowych przedstawiła 1 referat i 2 postery. Wykonała też recenzję artykułu przeznaczonego do druku w czasopiśmie Central European Journal of Biology.

Z zestawienia dorobku Kandydatki wynika, że nad działania indywidualne przedkłada pracę w zespole. W efekcie tylko w dwóch publikacjach była jedynym autorem, zaś w pozostałych współautorem, przy czym w 10-ciu Jej nazwisko w uznaniu wniesionego wkładu pracy twórczej i organizacyjnej znajduje się na pierwszym miejscu.

Prace wydane po uzyskaniu stopnia doktora, poza dotyczącymi tematu habilitacji, były publikowane w powszechnie znanych czasopismach naukowych o zasięgu światowym, takich jak: Aquaculture (1 publ.), Archives of Environmental Contamination and Toxicology (1), Ecotoxicology and Environmental Safety (2), Environmental International (1), Journal of

Environmental Science and Health (3), Marine Pollution Bulletin (5). Impact factor tych czasopism mieści się w przedziale 0,669 - 4,786.

Łączny IF wszystkich publikacji habilitantki wynosi 36,432, a indeks Hirscha 10. Ta ostatnia wartość wskazuje, że część Jej publikacji była cytowana co najmniej 10-krotnie i według bazy Thomsona sumaryczna liczba cytowań prac habilitantki przez innych autorów w chwili obecnej wynosi 188.

Badania naukowe dr Justyny Kopeckiej-Pilarczyk od samego początku były związane z oddziaływaniem różnych czynników środowiskowych na biomarkery. Na podstawie aktywności wybranych enzymów (AChE/BChE, GST, CAT i EROD) w małżach i rybach prowadziła próby oceny stanu zanieczyszczenia Bałtyku. Wykazała istnienie cykliczności zmian biomarkerów, które są związane z porami roku oraz cyklem reprodukcyjnym ryb. Udowodniła też, że istnieje zależność między poziomem aktywności różnych biomarkerów. Wyniki badań wykonanych na hydrobiontach bałtyckich znalazły potwierdzenie w późniejszych pracach habilitantki prowadzonych na organizmach żyjących w wodach u wybrzeży Portugalii.

Przedstawiony dorobek naukowy, którego podstawą są żmudne pracochłonne prace terenowe i laboratoryjne świadczy, że dr Justyna Kopecka-Pilarczyk jest odpowiednio przygotowana do realizacji badań naukowych oraz analizy i wprowadzania wyników do obiegu informacji w skali międzynarodowej.

Na dojrzałość naukową Kandydatki pozytywnie wpłynęła droga zawodowa jaką przebyła. Była to rzetelna praca pod kierunkiem wybitnych nauczycieli w IO PAN oraz liczne staże, szkolenia i wizyty naukowe w wiodących ośrodkach zagranicznych i krajowych. Pozwoliło Jej to poznać najnowocześniejsze metody i kierunki badań w zakresie oceanologii.

Uważam, że prace dr Justyny Kopeckiej-Pilarczyk wnoszą znaczny wkład w rozwój wiedzy o środowisku morskim.

### **Działalność organizacyjna i dydaktyczno-wychowawcza**

Bogata jest również działalność organizacyjna i samoszkoleniowa dr Justyny Kopeckiej-Pilarczyk. Jak wynika z dokumentacji, po doktoracie habilitantka aktywnie uczestniczy w organizacji i realizacji projektów badawczych. Obecnie kieruje też częścią portugalską współpracy między Polską i Portugalią w temacie „Porównanie poziomu zanieczyszczeń organicznych i biomarkerów u flądry zasiedlającej obszary przyujściowe rzek Douro i Wisły”. W ramach doskonalenia warsztatu badawczego odbywała staże naukowe na Uniwersytecie w Kioto, w Institute of Marine Sciences w Hiszpanii oraz w Morskim Instytucie Rybackim w Gdyni.

Z powodu pracy na stanowisku naukowo-badawczym nie prowadzi zajęć dydaktycznych, a Jej doświadczenia w tym zakresie ograniczają się do sprawowania opieki nad trzema magistrantami w okresie odbywania studiów doktoranckich w IO PAN w Sopocie, pracy nauczyciela biologii po uzyskaniu

stopnia doktora oraz szkolenia pracowników MIR w zakresie metody pomiaru EROD.

### **Wniosek końcowy**

Reasumując uważam, że dr Justyna Kopecka-Pilarczyk posiada odpowiednie osiągnięcia naukowe, Jej badania wnoszą nowe informacje w zakresie szeroko rozumianej oceanologii, habilitantka ma plany dalszych badań i nadal wykazuje się bardzo dużą aktywnością naukową.

Zgodnie z Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U., 2003, 65, 595 z późniejszymi zmianami) na podstawie przedstawionego przez dr Justynę Kopecką-Pilarczyk cyklu publikacji, które są opracowaniem tematu „Wpływ wybranych WWA oraz podwyższonego ciśnienia hydrostatycznego na wybrane biomarkery w rybach morskich w eksperymentach laboratoryjnych” oraz pozytywnej oceny całokształtu dorobku naukowego, a także wzięwszy pod uwagę osiągnięcia organizacyjne i dydaktyczno-wychowawcze, wnioskuję o dopuszczenie Jej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Szczecin, 21 maj 2012 r.



Prof. dr hab. inż. Mikołaj Protasowicki