

Słupsk, 27.12.2016

Prof. nadzw., dr hab. inż. Igor Z. Zubrzycki PhD
Wydział Matematyczno-Przyrodniczy,
Instytut Biologii i Ochrony Środowiska,
Zakład Zoologii i Fizjologii Zwierząt
Akademii Pomorskiej w Słupsku,
ul. Arciszewskiego 22b,
76-200 Słupsk

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Katarzyny Pałczyńskiej-Guguły

pt.: „Kształtowanie się mechanizmów reakcji antyoksydacyjnych oraz wybranych parametrów biochemicznych w różnych stadiach rozwojowych troci wędrowej (*Salmo trutta m. trutta* L.)

Przedmiotem recenzji jest rozprawa mgr Katarzyny Pałczyńskiej-Guguły *pt.: „Kształtowanie się mechanizmów reakcji antyoksydacyjnych oraz wybranych parametrów biochemicznych w różnych stadiach rozwojowych troci wędrowej (*Salmo trutta m. trutta* L.)”*. Przedstawiona praca ma charakter badawczy i składa się z 8 rozdziałów głównych i z 9-ego rozdziału z załącznikami. Tekst rozprawy liczy 184 strony, w tym 32 ryciny i 11 tabele. W ramach realizacji głównych celów badawczych pracy przeprowadzono obszerne eksperymenty oraz analizy statystyczne.

W rozdziale 1, dotyczącym części wstępnej pracy, Doktorantka omówiła najważniejsze problemy ekofizjologiczne obiektu badań - troci wędrowej. Zaznaczone aspekty dotyczyły znaczenia ryb jako obiektu konsumpcji w profilaktyce chorób cywilizacyjnych, wpływu czynników środowiskowych i antropogenicznych w zmniejszeniu korzystnych warunków bytowania tego gatunku ryb. Autorka wskazała również na rolę procesów rozwojowych (wylęg, parr, smolt, srebrniak, tarlak, kelt) jako najważniejszych etapów w zachowaniu bioróżnorodności troci wędrowej. W części tej przedstawiono również znaczenie tego gatunku ryb dla gospodarki wędkarskiej regionu pomorskiego.

Wstępny rozdział zawiera krótką charakterystykę wykorzystanych narzędzi badawczych – mianowicie, analizę procesów redox dla oceny kondycji fizjologicznej ryb na różnych stadiach rozwojowych. Podrozdział 1.1. części wstępnej przedstawia główny cel, zakres i pięć tez rozprawy.

W rozdziale 2 przedstawiono przegląd literatury związanej z problematyką badań w celu analizy aktualnego stanu wiedzy w zakresie ekofizjologicznych uwarunkowań bytowania troci wędrowej (dokładnie opisano rzekę Pomorza środkowego Słupię i jej dopływy) oraz analizę

danych literatury przeprowadzonych na różnych gatunkach zwierząt z szczególnym uwzględnieniem tematyki wolnorodnikowych reakcji i wpływu na nich różnych czynników (biotycznych, abiotycznych).

Analiza doniesień pozycji literatury uwzględnia również powiązania metabolizmu różnych tkanek w powiązaniu ze stadiami rozwojowymi troci wędrownej, funkcjonowanie głównych markerów przemian metabolizmu, m.in. rolę enzymów transaminaz, dehydrogenazy mleczajowej i substratów tj. mleczan i pirogronian. Autorka w tej części przedstawia również rolę metali w układach biologicznych z podziałem na mikro- i makroelementy i ich znaczenie dla ryb. W pracy wykorzystano przeważnie literaturę anglojęzyczną z ostatnich 10 lat. Analiza ta pozwoliła doktorantce na dogłębne zapoznanie się z tematem badawczym pozwalając na ktytyczne podejście po postawionego tematu badawczego.

Rozdział 3 zawiera omówienie wykorzystanych w pracy materiałów i metod. Przedstawiono w nim również teren badań, przygotowanie materiału badawczego oraz metodykę przeprowadzonych analiz biochemicznych dotyczących oznaczenia intensywności procesów lipoperksydacji, poziomu aldehydowych i ketonowych pochodnych przemian białkowych, całkowitej zdolności antyoksydacyjnej, enzymatycznej części oznaczania poziomu stresu oksydacyjnego, enzymatycznej i substratowej części badań przemian biochemicznych oraz zawartości pierwiastków w materiale biologicznym. Autorka dokładnie wyjaśnia w rozdziale 3.4 metody statystyczne użyte w analizie wyników.

Rozdział 4 zawiera wyniki analiz biochemicznych poziomu markerów stresu oksydacyjnego dla czterech wybranych typów homogenatów tkanek (mięśniowej, sercowej, skrzelowej, wątroby) z uwzględnieniem poziomu wskaźników przemian metabolicznych z dokładną analizą korelacyjną wynikających na każdym etapie rozwojowym powiązań w wyniku przeprowadzonej analizy statystycznej. Dla tkanki mięśniowej doktorantka również przeprowadziła eksperymenty dotyczące zawartości metali (mikro- i makroelementów) w różnych stadiach rozwojowych troci wędrownej.

Rozdział 5 na podstawie własnych danych i analizy dostępnej literatury zawiera dyskusję otrzymanych wyników.

Rozdział 6 przedstawia wnioski końcowe w ilości 8 pozycji.

W rozdziale 7 umieszczono spis tabel i rycin wykorzystanych w pracy.

Rozdział 8 ukazuje 355 pozycji literaturowych oraz 2 źródła internetowe.

W rozdziale 9 zawarto 6 tabeli dotyczące aktywności enzymów antyoksydacyjnych i przemian metabolicznych w różnych tkankach badanych ryb z dokładnym wyjaśnieniem statystycznych relacji w każdym stadium rozwojowym, wykorzystane Autorką w pracy.

Uważam, że przyjęty przez Doktorantkę układ pracy jest poprawny, kolejność umieszczenia części wstępnej, przeglądu literatury, materiałów i metod, otrzymanych i analizowanych wyników, odpowiada przyjętej praktyce rozpraw doktorskich i nie budzi zastrzeżeń.

3. Ocena formalna i merytoryczna rozprawy.

3.1. Ocena doboru tematu badań i postawionych celów rozprawy doktorskiej

Jakość produkcji rybnej w związku ze zmianą stylu życia współczesnej cywilizacji i wzrostem jej konsumpcji jest jednym z podstawowych wyzwań dla akwakultury. Z tego punktu widzenia ryby wędrowne, do których zaliczamy troć wędrówną, są bardzo istotnym czynnikiem różnorodności biologicznej rzek województwa pomorskiego oraz ważnym elementem ekologii wód płynących. Nie mniej ważnym wydaje się teza, że ryby te ze względu na ich długość życia, przebieg procesów rozwojowych oraz tendencję do wędrówek określić można mianem bioindykatorów wielkoobszarowych i wieloletnich.

Poprzez to, że ryby zajmują jedno z ostatnich ogniw w łańcuchu troficznym ekosystemu wodnego i mogą kumulować metale ciężkie w swoim organizmie, jednocześnie odgrywają istotną rolę w eliminowaniu tych związków ze zbiorników wodnych. Takie podejście stwarza niekorzystne warunki do przeżycia ryb na różnych stadiach rozwojowych. Wiadomo, że reakcja organizmu ryb na stan czystości środowiska wyraża się w funkcjonowaniu narządów i tkanek, i dotyczą przedstawionych w literaturze zaburzeń zawartości elementów morfologicznych krwi, działania enzymów, aktywności transportu białek, funkcjonalnych przemian (wzrost, rozwój) oraz reprodukcji.

Badania prezentowane w przedstawionej pracy, tj. powiązanie badań ekologicznych, fizjologicznych i biochemicznych dla gatunków dwuśrodowiskowych (ryby anadromiczne) są w Polsce ujęciem nowatorskim. Recenzowana rozprawa doktorska bardzo dobrze wpisuje się a temat, ważny przede wszystkim z punktu widzenia fizjologów, wędkarzy, ichtiologów, ekologów oraz uzupełnia wiedzę badań podstawowych.

Ważnym jest fakt dopasowania wybranego tematu w aktualną problematykę ochrony środowiska, dotyczącej zanieczyszczenia wód oraz wpływu pollutantów na organizm ryb, przez co stanowią dobry bioindykator skażenia środowiska.

Autorka klarownie postawiła główny cel rozprawy i metodycznie go zrealizowała. Takie podejście może świadczyć o dobrym przygotowaniu do badań i ich analizie. Dowodzi

również umiejętności dobrego łączenia przez Autorkę teoretycznych i praktycznych aspektów pracy terenowej i laboratoryjnej.

3.2. Ocena naukowej wartości rozprawy

Po analizie zawartości rozprawy doktorskiej za najważniejsze oryginalne osiągnięcia autora trzeba uznać:

1. Wnikliwa analiza dostępnych źródeł literatury z różnych dziedzin dotyczących analizowanego problemu (fizjologia, biochemia, ekologia, chemia środowiskowa i in.) pozwoliła na odnalezienie własnego „luku problemowego” z potrzebą właściwego sformułowania oryginalnego tematu badawczego.
2. Metody oceny i poszukiwania rozwiązań metodycznych istniejącego problemu potrzebowały wskazanie grupy wiodących parametrów biochemicznych, co autorka i zrobiła, moim zdaniem, udanie.
3. Wykonanie i przeprowadzenie znacznej ilości badań terenowych, związanych z pobraniem ogromnej liczby próbek od 426 osobników troci wędrownej, jak i laboratoryjnych.
4. Ważnym jest fakt nawiązywania współpracy w realizowanych badaniach pomiędzy Polskim Związkiem Wędkarskim w Słupsku z jednej strony a Zespołem Parków Krajobrazowych z drugiej, i uczelnią wyższą, z trzeciej, co stwarza możliwości praktycznego wykorzystania wyników dla różnych grup odbiorców w przyszłości.
5. Wszystkie podjęte badania były niezbędne do scharakteryzowania procesów redox, zachodzących w różnych tkankach materiału badawczego, wnosząc istotne elementy nowości w aktualny stan wiedzy dla tego gatunku ryb.

3.3. Sposób opracowania

Strona graficzna recenzowanej pracy jest poprawna. Tabele czytelne, dość obszerne i umieszczone w załącznikach. Rysunki nie dość czytelne, wymagają do wykorzystania, moim zdaniem, innej czcionki. Autorka nie ustrzegła się pewnych błędów cytowania literatury (przedstawiono w dalszej części recenzji). Praca pod względem edytorskim przygotowana dość starannie. Jednak w recenzowanej pracy stwierdza się brak streszczenia w języku angielskim, którego obecność, zgodnie z art. 13 ust. 6 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. Ustaw Nr 65, poz. 595 z późn. zm) stanowi wymóg formalny.

3.4. Ocena sposobu sformułowania wniosków w pracy

Autorka do hipotezy głównej oraz hipotez szczegółowych odniosła się w pracy w rozdziale zatytułowanym Wstęp. Na podstawie przeprowadzonych biochemicznych oznaczeń związanych z występowaniem stresu oksydacyjnego, wybranych enzymów i substratów oraz zawartości pierwiastków, Autorka sformułowała 8 wniosków. Przedstawione wnioski ściśle wynikają z przeprowadzonych badań, poparte odpowiednią interpretacją przebiegu i charakterystyką etapów rozwojowych troci wędrowniej oraz dyskusją. Sposób prezentacji i formułowania przez Doktorantkę wniosków oceniam poprawnie.

4. Uwagi krytyczne.

Poniżej umieszczam uwagi charakteru dyskusyjnego, które są następujące:

1. Na stronie 52 umieszczono podrozdział 2.6 „Charakterystyka oraz ocena stanu czystości rzeki Słupia oraz jej dopływów”, po którym doktorantka zamieszcza akapit dotyczący analizy całego przeglądu literatury i określa problematykę zadań do rozwiązania. Moim zdaniem, ten rozdział lepiej bym odpowiadał tematyce rozdziału 2.1, gdzie umieszczono analizę wpływu czynników biotycznych i abiotycznych na przebieg cyklu rozwojowego troci wędrowniej lub następnego 2.1.3 Troć wędrowną jako bioindykator stopnia zanieczyszczenia środowiska.
2. Ryciny 10-15 na stronie 57 przedstawiają różne rzeki dopływów Słupi, gdzie były przeprowadzone odłowy ryb. Ze względu na umieszczone przez Autora dane ostatnich lat, wynikające z publikacji Bernasia i współautorów (2013), dotyczące mikrogeograficznego zróżnicowania i wyodrębnienia 4 subpopulacji troci z terenów zlewni Słupi, na komentarz wymaga następująca teza: czy może to mieć wpływ na Pani badania?
3. Wiadomo, że zarybianie ma znaczny wpływ na populację troci wędrowniej regionu pomorskiego. Czy ten fakt został uwzględniony w Pani badaniach?
4. W rozdziale Materiały i metody zawarto wykaz przeprowadzonych badań enzymów i substratów metodami biochemicznymi z wskazaniem tylko autorów, rocznika oraz zasad metod. Jednak w tym przypadku brak wskazania dokładnego sposobu przeprowadzonych badań przez Autorkę utrudnia analizę. Na przykład, czy były stosowane modyfikacje tych metod oznaczania? Również brakuje numeracji międzynarodowej klasyfikacji enzymów. Proszę o komentarz.

5. W rozdziale Materiały i metody Doktorantka zaznacza wykorzystanie testu U Manna-Whitneya dla oceny istotności pomiędzy dwiema grupami danych. W jakim celu był stosowany ten test?
6. Dane literaturowe wskazują na rolę enzymatycznych i nieenzymatycznych antyutleniaczy w przebiegu fizjologicznych i szczególnie, patologicznych mechanizmów działania różnych niekorzystnych wpływów. Jak Autorka rozwiązała ten problem, wykorzystując w swoich badaniach tylko analizę grupy antyoksydantów enzymatycznych? Proszę o komentarz.
7. Jakie były podstawowe kryteria doboru pierwiastków do analizy?
8. Moim zdaniem praca zawiera za dużo wyników badań analizowanych tkanek, liczbę których można było zmniejszyć do dwóch-trzech.
9. Praca nie zawiera jednolitego sposobu cytowania literatury, na przykład str 64 (Kinnunen et al., 2005). Najwięcej jednak uchybień w cytowaniu pozycji literatury w rozdziale 8. Chodzi o pozycje 7, 10, 11, 24, 25, 31, 34, 35, 40, 43, 44, 47, 56, 352, 355 i in.
10. Na kilku stronach źle zredagowano tekst z rycinami, pozostawiając dużą przestrzeń strony wolną.

5. Wnioski końcowe.

W recenzowanej pracy doktorskiej mgr Katarzyna Pałczyńska-Guguła przedstawiła oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, dotyczącego wyjaśnienia mechanizmów formowania bilansu antyoksydacyjnego, wybranych parametrów biochemicznych i zawartości pierwiastków w tkankach mięśnia, serca, wątroby i skrzeli w zależności od stadium rozwojowego troci wędrownej, co pozwala stwierdzić, że zamierzony cel rozprawy doktorskiej został osiągnięty.

Autorka pracy wykazała się odpowiednim stanem wiedzy z tematyki prowadzonych badań, umiejętnościami współpracy w dużych grupach badawczych i kompetencjami społecznymi dotyczącymi planowania zarówno badań terenowych jak i przeprowadzenia licznych analiz laboratoryjnych. W celu realizacji licznych badań doświadczalnych Autorka zastosowała poprawne metody badawcze (analiza poziomu stresu oksydacyjnego, aktywności enzymów, statystyczne opracowanie wyników). W trakcie przeprowadzonej dyskusji Doktorantka wykazała się umiejętnościami analizować, krytycznie oceniać i szukać rozwiązań teoretycznych. Nie mniej ważnym wydaje się możliwość praktycznego wykorzystania uzyskanych wyników dla potrzeb konkretnych odbiorców.

W punkcie 4 umieszczone uwagi krytyczne, które w żaden sposób nie obniżają poziomu merytorycznego przedstawionej mi do analizy pracy. Uważam te uwagi za dyskusyjne, które będą pomocne Autorce do przygotowania innych tematów badawczych i artykułów do różnych czasopism naukowych.

Nadmieniam, że rozprawa mgr Katarzyny Pałczyńskiej-Guguły stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i potwierdza, że Autorka posiada wiedzę teoretyczną i praktyczne umiejętności niezbędne do prowadzenia tego typu pracy naukowej. Rozprawa napisana poprawnym językiem, na dobrym poziomie, z wykorzystaniem znacznej liczby opracowań źródłowych literatury z ostatnich 10 lat oraz wnosi wkład w rozwój wiedzy teoretycznej i praktycznej w dyscyplinie „Biologia”. Przeprowadzone badania mają również znaczenie praktyczne. Problemy, związane z wykorzystaniem ryb jako bioindykatorów stopnia zanieczyszczenia środowiska o unikatowych cechach konsumpcyjnych, jak również i elementach bioróżnorodności, poszerzają zakres praktycznego wykorzystania otrzymanych Autorką wyników dysertacji.

Biorąc pod uwagę wszystkie przyjęte kryteria oceny, **STWIERDZAM, IŻ PRZEDSTAWIONA MI DO RECENZOWANIA ROZPRAWA DOKTORSKA MGR KATARZYNY PAŁCZYŃSKIEJ-GUGUŁY PT.: „KSZTAŁTOWANIE SIĘ MECHANIZMÓW REAKCJI ANTYOKSYDACYJNYCH ORAZ WYBRANYCH PARAMETRÓW BIOCHEMICZNYCH W RÓŻNYCH STADIACH ROZWOJOWYCH TROCI WĘDROWNEJ (*SALMO TRUTTA* M. *TRUTTA* L.) SPEŁNIA WYMOGI STAWIANE PRACOM DOKTORSKIM I WNOSZĘ DO RADY WYDZIAŁU MATEMATYCZNO-PRZYRODNICZEGO AKADEMII POMORSKIEJ W SŁUPSKU WNIOSEK O PRZYJĘCIE ROZPRAWY I DOPUSZCZENIE JEJ DO PUBLICZNEJ OBRONY.**