

Prof. dr hab. Roman Wenne
Instytut Oceanologii PAN
Ul. Powstańców Warszawy 55
Sopot

23.05.2016

Recenzja

pracy doktorskiej P. mgra Marcina Kucińskiego:

„Charakterystyka genetyczna wybranych stad głowacicy (*Hucho hucho* Linnaeus, 1758)”

Głowacica jest zagrożonym gatunkiem ryb łososiowatych zasiedlającym płynące wody słodkie w centralnej Europie. Naturalne rozmieszczenie tego gatunku obejmowało rzeki w Bośni-Hercegowinie, Czarnogórze, północno-zachodniej Chorwacji, Rumunii, Serbii, Słowenii, Niemczech, Austrii, Czechach, Słowacji, Polsce i w zachodniej Ukrainie (Ihut i in. 2014. Danube Salmon (*Hucho hucho*) in Central and South Eastern Europe: A Review for the Development of an International Program for the Rehabilitation and Conservation of Danube Salmon Populations. Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies, 71(2)). Aktualnie, w większości tych krajów populacje głowacicy utrzymują się w wyniku prowadzonych zarybień. Populacje rozradzające się w sposób naturalny są nieliczne i występują tylko w 2 krajach (Austria i Czarnogóra). Głowacica osiąga duże rozmiary w porównaniu z innymi łososiowatymi i jest obiektem połowów wędkarskich. Jest gatunkiem chronionym umieszczonym w Polskiej czerwonej księdze zwierząt, w części CR –gatunki skrajnie zagrożone). Wcześniej nie prowadzono szerszych badań genetycznych jej populacji. Brak badań genetycznych, które byłyby związane z pracami hodowlanymi i restytucją zaznaczał się szczególnie w Polsce i w krajach przyległych. Geist et al. (2009, The importance of genetic cluster recognition for the conservation of migratory fish species: the example of the endangered European huchen *Hucho hucho* (L.). Journal of Fish Biology, 75: 1063–1078) rekomendował przeprowadzenie badań genetycznych populacji głowacicy w celu identyfikacji jednostek zarządzana i określenia podstaw naukowych do zalecenia ograniczenia praktykowanych transferów materiału zarybieniowego między różnymi rejonami i krajami. Wobec powyższego podjęcie badań w zakresie tematycznym ocenianej pracy doktorskiej jest jak najbardziej uzasadnione.

Oceniana praca doktorska została przygotowana na podstawie trzech publikacji, których tytuły są przedstawione na str. 4. Praca składa się z następujących części: Spis treści, Streszczenie w języku polskim, Streszczenie w języku angielskim, Wstęp, Cel pracy, Materiał badawczy, Opis stosowanych metod, Opis uzyskanych wyników i ich omówienie,

Podsumowanie i wnioski, Spis literatury oraz Załączniki. Jako załączniki zostały przedstawione 3 publikacje w języku angielskim tworzące pracę doktorską, których pierwszym autorem jest P. mgr M. Kuciński. Do każdej publikacji są załączone oświadczenia każdego współautora o charakterze udziału w publikacji. Ponadto, każdy współautor potwierdził, iż wkład naukowy mgra. M. Kucińskiego w ostateczną wersję publikacji przekracza 60%.

Szeroki opis w języku polskim bazuje na 3 publikacjach i stanowi ich syntezę, jednak nie jest prostym przetłumaczeniem części tekstu publikacji. Omawiana część pracy doktorskiej zawiera skrócony opis zastosowanych metod badawczych, obszernie przedstawienie wyników oraz ich omówienie wraz ze wskazaniem znaczenia i rekomendacji dla zastosowania w gospodarce zarybieniowej. Natomiast w załączonych artykułach zawarto opis tematyki przeprowadzonych badań na tle dotychczasowej wiedzy i ich uzasadnienie, szczegółowe opisy zastosowanych metod badawczych, uzyskanych wyników i ich dyskusje. Autor przedstawił 3 cele badań w swojej pracy: uzyskanie szczegółowej charakterystyki cytogenetycznej głowacicy z zastosowaniem klasycznych technik cytogenetycznych, dokonanie oceny zmienności genetycznej głowacicy z Polski z zastosowaniem wybranych fragmentów mikrosatelitarnego DNA w porównaniu z próbami ze stad głowacicy z Niemiec, Słowacji i Ukrainy, przeprowadzenie analizy zmienności wybranych fragmentów mitochondrialnego DNA w stadach z Polski, Niemiec, Słowacji i Ukrainy.

Do obszernego opisu w języku polskim mam jedynie kilka drobnych uwag redakcyjnych: Str. 6 i 18, zamiast „przemysłanych...” powinno być raczej „optymalnych zabiegów ochronnych”,

Str. 7, „przyjmowały wartości” jest określeniem potocznym, „Hardego-Weinberga” jest chyba spolszczeniem i sposobem odmiany analogicznej do twardego, ale poprawnie powinno być Hardy’ego-Weinberga lub Hardy-Weinberga.

Str. 8 i 25, jest „statystyczna dyferencjacja”, wydaje mi się, że dyferencjacja oznacza raczej proces niż efekt końcowy. Efektem końcowym dyferencjacji może być np. zróżnicowanie.

Str. 22, nazwa „nerka głowowa” jest synonimem przednercza. 3 linijka tekstu: opuszczona litera „e” w słowie „trawienie”.

Str. 23, prosiłbym Kandydata o wyjaśnienie sposobu rozumienia terminów: „fragmenty mikrosatelitarnego DNA” i „loci mikrosatelitarne”.

Str. 25, proszę o wyjaśnienie pojęcia „efektywna liczba populacji N_e ”. Czy chodzi o liczbę populacji w teście STRUCTURE, liczbę badanych osobników w populacji czy efektywną wielkość populacji. Następnie, co oznacza określenie: „sekwencje ... wyrównano względem siebie za pomocą programu ClustalX wersja 2.1.....”.

Str. 33, jest „wyższe wskaźniki zróżnicowania genetycznego”, powinno być wyższe wartości wskaźników...

Str. 36, „mówi się” i „wspomnianego” – to raczej określenia potoczne.

Str. 38, błąd literowy: „tranzwersja”, powinno być: transwersja.

Str. 44, „wyciągnięto wnioski” – to określenie żargonowe. Raczej powinno być „sformułowano wnioski”.

Jak zrozumiałem treść Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. z późniejszymi zmianami, ocenie podlega część merytoryczna, w przypadku ocenianej pracy doktorskiej jest ona zawarta w 3 publikacjach w języku angielskim. Poniżej przedstawiam zwięzłą informację o tych publikacjach.

- 1) Publikacja: Kucinski M., Ocalewicz K., Fopp-Bayat D., Liszewski T., Furgala-Selezniow G., Jankun M. 2014. Distribution and heterogeneity of heterochromatin in the European huchen (*Hucho hucho* Linnaeus, 1758) (Salmonidae). *Folia Biologica* (Kraków), 62: 81-89. DOI 10.3409/fb62_2.81.

Czasopismo *Folia Biologica* znajduje się na liście „A” Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego obejmującej czasopisma indeksowane przez Web of Science i wg. autora miało przyznaną liczbę punktów 15. Natomiast na najnowszej liście (za rok 2015) ma 20 punktów.

Celem badań było uzyskanie charakterystyki heterochromatyny głowacicy z zastosowaniem technik cytogenetycznych oraz analizy restrykcyjnej. Stwierdzono, że kariotyp głowacicy składa się z 82 chromosomów (liczba ramion NF=112): 13 par metacentrycznych, 2 par submetacentrycznych, 6 par subtelocentrycznych i 20 akrocentrycznych. Zidentyfikowano 12 typów heterochromatyny konstytutywnej zgrupowanej w telomerach, centromerach, regionie interstycjalnym i organizacji jąderka. Kariotyp głowacicy został zbadany po raz pierwszy, wobec powyższego publikacja wnosi nową wiedzę dla nauki.

- 2) Publikacja w wersji on-line z DOI 10.1007/s13353-015-0274-9 bez przyznaných numerów stron w pracy doktorskiej, obecnie opublikowana: Kucinski M., Fopp-Bayat D., Liszewski T., Svinger V. W., Lebeda I., Kolman R. 2015. Genetic analysis of four European huchen (*Hucho hucho* Linnaeus, 1758) broodstocks from Poland, Germany, Slovakia, and Ukraine: implication for conservation. *Journal of Applied Genetics*, 56: 469–480.

Czasopismo *Journal of Applied Genetics* jest wydawane w Polsce, znajduje się na liście „A” Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego i ma przyznaną liczbę punktów 20.

Celem badań było określenie zmienności genetycznej stad tarłowych głowacicy z 4 krajów poprzez zastosowanie analizy mikrosatelitarnego DNA oraz opracowanie zaleceń dotyczących dalszej gospodarki zarybieniowej i ochrony gatunku. Do badań użyto prób pobranych przeżyciowo od 135 osobników głowacicy z 4 ośrodków hodowlanych. Przeprowadzono analizy dla 29 loci mikrosatelitarnych, z których wybrano 10 do przeprowadzenia analiz populacyjnych. Wykazano, iż stada z Polski, Słowacji i Ukrainy charakteryzowały się niższym poziomem zmienności genetycznej w porównaniu ze stadem niemieckim. W stadzie z Niemiec stwierdzono najwyższą liczbę alleli prywatnych. W Tabeli 5 są podane wartości F_{ST} , jednak nie zauważyłem informacji o poziomie ich istotności (p) i podobnie na Rysunku 2 przedstawiającym drzewo UPGMA. Stado niemieckie na tym drzewie tworzy odrębny kład w zestawieniu ze stadami z Polski, Ukrainy i Słowacji. Publikacja wnosi nową wiedzę dla nauki. W publikacji sformułowano zalecenie dotyczące użycia ryb z Ukrainy w razie konieczności pozyskania dodatkowego materiału do budowy stada tarłowego w Polsce.

- 3) Publikacja w wersji on-line z DOI 10.17221/8599-CJAS bez przyznanych nr stron w pracy doktorskiej, obecnie opublikowana: Kucinski M., Fopp-Bayat D., Zivna D., Liszewski T., Svinger V., Lebeda I. 2015. Application of mtDNA markers for European huchen (*Hucho hucho* Linnaeus, 1758) management in Poland. Czech Journal of Animal Science, 60, (12): 564–570.

Czasopismo Czech Journal of Animal Science znajduje się na liście „A” Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego i ma przyznaną liczbę punktów 30.

Celem badań było poznanie struktury genetycznej populacji hodowlanych głowacicy z Polski, Niemiec, Słowacji i Ukrainy z zastosowaniem analizy wybranych fragmentów mitochondrialnego DNA. Do przeprowadzenia badań wykorzystano próby pobrane od 119 osobników głowacicy z 4 ośrodków hodowlanych. Najprawdopodobniej był to zestaw prób, wydzielony z zestawu prób użytego do badań mikrosatelitarnego DNA. W części 3. „Materiał badawczy” na str. 21 opisu w języku polskim nie przedstawiono jednoznacznie, czy były to te same osobniki czy inne pobrane w tym samym okresie w latach 2011-2013 z tych samych hodowli. Użycie tych samych prób do przeprowadzenia badań mitochondrialnego DNA, należy uznać za optymalne i ekonomiczne wykorzystanie cennego materiału. 5 fragmentów mitochondrialnego DNA obejmujących geny: *ND1*, *ND5*, *ATP6*, *Cytb* oraz główny rejon niekodujący D-loop (CR) o łącznej długości 3573 par zasad poddano sekwencjonowaniu metodą Sangera. Wykryto 3 haplotypy. Na Rysunku 1 w publikacji przedstawiono dendrogram UPGMA obrazujący zależności filogenetyczne między badanymi stadami hodowlanymi. Kład A tworzy

tylko próba z Niemiec, podczas gdy w kładzie B są zgrupowane próby z pozostałych 3 krajów, w tym z Polski. Po porównaniu uzyskanych wyników z danymi dotychczas opublikowanymi, Autorzy wskazują na potrzebę dokładnego zmapowania haplotypów w skali całego zasięgu geograficznego populacji gładzicy. Uzyskane wyniki przyczynią się do dalszego udoskonalenia hodowli i programu ochrony głowacicy w Polsce.

Wszystkie 3 publikacje charakteryzują się dobrą jakością, zarówno pod względem ilości prób ryb użytych do badań, jakością przeprowadzonych analiz eksperymentalnych, opracowaniem uzyskanych wyników i sposobem ich przedstawienia oraz omówieniem na tle dotychczasowej wiedzy. Przedstawione cele pracy zostały osiągnięte. Wartości naukowej wymienionych publikacji nie pomniejsza fakt ich zamieszczenia w 1 czeskim i 2 polskich czasopismach międzynarodowych. Znaczna część uzyskanych wyników ma implikacje dla dalszej strategii gospodarki zarybieniowej i prac nad ochroną gatunkową głowacicy.

Podsumowanie:

Przedstawione w pracy doktorskiej 3 publikacje Pana mgra Marcina Kucińskiego stanowią spójny tematycznie zbiór artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych, określonych przez ministra właściwego do spraw nauki na podstawie przepisów dotyczących finansowania nauki. Praca doktorska mgra Marcina Kucińskiego stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Kandydat wykazał w niej ogólną wiedzę teoretyczną w swojej dyscyplinie naukowej oraz potwierdził umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Praca świadczy o Jego dojrzałości jako naukowca. Praca wnosi wkład do aktualnej wiedzy naukowej. Oceniana praca spełnia wymogi ustawowe stawiane pracom doktorskim i dlatego przedkładam wniosek do Rady Wydziału Nauk o Środowisku Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Pana mgra Marcina Kucińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wenne Roman