

Prof. dr hab. inż. Zdzisław Zakęś
Zakład Akwakultury
Instytut Rybactwa Śródlądowego
im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie
e-mail: z.zakes@infish.com.pl

Olsztyn, 23 sierpnia 2018 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Stańczak
**pt. „Pokarm jako nośnik barwników fluorescencyjnych w procesie
masowego znakowania młodocianych stadiów ryb”**

wykonanej w na Wydziale Nauk o Środowisku Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego
w Olsztynie pod kierunkiem dr hab. inż. Piotra Hliwy, prof. UWM

*Recenzję wykonano w związku z uchwałą Rady Wydziału Nauk o Środowisku Uniwersytetu
Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie –
Pismo Dziekana Wydziału dr hab. inż. Ewy Paturej, prof. UWM, z dnia 26.06.2018 r.
(syg. - WNoŚ-DZ.53.5.2018)*

Uwagi ogólne – zasadność wyboru tematu rozprawy

Znakowanie jest ważnym narzędziem pozwalającym poznawać biologię gatunku, jego migracje i szeroko rozumiany behavior. Jednym z celów tej procedury jest np. skwantyfikowanie efektów zarybień materiału wsiedlanego do wód otwartych. Istnieje mnogość metod znakowania ryb i innych organizmów wodnych, jednak szczególnie istotne jest, aby dana technika umożliwiała poznakowanie dużej liczby ryb (czyli była masowa), powinna być również szybka, tania, skuteczna (wysoka retencja znaczków) i oczywiście małoinwazyjna (bezpieczna dla znakowanych ryb). Ważne jest również, aby dana metoda umożliwiała przyżyciową i w miarę nieskomplikowaną identyfikację poznakowanych osobników po ich odłowieniu ze zbiorników naturalnych. Stosowane dotychczas metody znakowania materiału zarybieniowego, np. wymrażanie, wypalanie, obcinanie płetw, stosowanie znaczków zewnętrznych, np. typu „Floy-tag” czy „Carlin” niestety nie spełniają większości z wyżej wymienionych cech. Co ważne, nie umożliwiają one znakowania stadiów larwalnych ryb, a jedynie młodociane i dojrzałe płciowo osobniki.

Tematyka przedmiotowej rozprawy doktorskiej dotyczy właśnie problematyki masowego znakowania stadiów larwalnych i młodocianych ryb. Zagadnienia interesującego zarówno od strony *stricte* poznawczej, jak i aplikacyjnej. Faktem godnym podkreślenia jest

to, że Kandydatka swoimi badaniami objęła gatunki bardzo cenne zarówno z ekologicznego, jak gospodarczego punktu widzenia, tj. jazia, miętusa i sielawę. Głównie były to stadia larwalne tych gatunków, które w przypadku sielawy i miętusa są dominującym sortymentem materiału zarybieniowego wprowadzanego do wód otwartych w Polsce, co oczywiście podnosi wartość użytkową tych badań. Opracowane przez Kandydatkę metody masowego znakowania stadiów larwalnych i młodocianych tych gatunków za pomocą barwników fluorescencyjnych zawartych w pokarmie (metoda *per os*) stanowią w zasadzie gotowy „przepis” do ich praktycznego zastawiania w obiektach wylęgarniczych zajmujących się produkcją materiału zarybieniowego i/lub obsadowego. Obserwowany w ostatnich latach postęp techniczny i technologiczny w polskim wylęgarnictwie, związany przede wszystkim z rozwojem i implementacją technologii recyrkulacyjnych systemów akwakultury (tzw. RAS), umożliwił opanowanie technik rozrodu i podchowu różnych stadiów rozwojowych nowych dla intensywnej akwakultury gatunków, w tym ryb, które były obiektem badań Kandydatki. Stworzyło to możliwości odpowiedniego przygotowania materiału do zarybień, w tym np. jego masowe znakowanie. Odnotować należy, że opracowaną przez Kandydatkę metodę znakowania można by bez mała nazwać idealną (*vide* pierwszy akapit recenzji). Nie umożliwia ona jednak przyżyciowej identyfikacji poznakowanych ryb, a samą metodę detekcji znaczków nie można też uznać za nieskomplikowaną.

Badania Kandydatki stanowią kontynuację prac badawczych prowadzonych przez Panią prof. Marię Nagięć, którą należy uznać za pioniera prac badawczych nad znakowaniem ryb za pomocą barwników fluorescencyjnych. Zespół kierowany przez Panią Profesor znakomicie rozwinął tę metodę badawczą, a Pani mgr Stańczak jest kolejnym przedstawicielem szkoły olsztyńskiej zajmującej się tym zagadnieniem, twórczo je doskonalącym i uzupełniającym. Umiejętność kreatywnego korzystania z dorobku swoich mistrzów, poprzedników, bardzo dobrze świadczy o potencjale naukowym Kandydatki.

Struktura rozprawy i jej ocena formalna

Przedmiotowa rozprawa doktorska składa się z trzech spójnych tematycznie (wyszczególnionych poniżej), oryginalnych publikacji naukowych, którym Doktorantka nadała wspólny tytuł „**Pokarm jako nośnik barwników fluorescencyjnych w procesie masowego znakowania młodocianych stadiów ryb**”:

- (praca I) **Stańczak K.**, Krejszeff S., Dębowska M., Mierzejewska K., Woźniak M., Hliwa P. 2015 – Mass-marking of *Leuciscus idus* (Linnaeus 1758) larvae using *Artemia salina* (Linnaeus 1758) as a vector of fluorescent dyes – ***Journal of Fish Biology* 87: 799-804** [IF (2015 r.; wg *Web of Science Core Collection*) – 1,246; liczba punktów MNiSW (2015 r.) – 30 pkt.];
- (praca II) **Stańczak K.**, Król J., Żarski D., Hliwa P. 2017 – Marking of burbot (*Lota lota* L.) with fluorescent dyes using the *per os* method – ***Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 17: 121-127** [IF (2017 r.; wg *Web of Science Core Collection*) – 0,482; liczba punktów MNiSW (2017 r.) – 15 pkt.];
- (praca III) **Stańczak K.**, Mierzejewska K., Król J., Hliwa P. 2017 – The use of live and frozen *Artemia salina* nauplii enriched with fluorochromes for mass-marking vendace *Coregonus albula* (L.) larvae – ***Journal of Applied Ichthyology* 33: 1173-1177** [IF (2017 r.; wg *Web of Science Core Collection*) – 0,774; liczba punktów MNiSW (2017 r.) – 20 pkt.].

Zasadniczą część dostarczonej dokumentacji stanowią kserokopie trzech publikacji składających się na rzeczoną rozprawę doktorską. Znajdują się w niej też starannie przygotowane „Streszczenie” w języku polskim i angielskim. Istotną część dokumentacji stanowi kompilacyjne podsumowanie trzech ww. publikacji, składające się z rozdziałów: „Wstęp”, „Cel pracy”, „Materiały i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Wnioski” i „Literatura”. Układ ten jest typowy i zawiera informacje niezbędne dla tego typu opracowań. Zostało ono spisane na 32 stronach maszynopisu, w sposób przejrzysty i informatywny. Dokumentacja zawiera oświadczenia wszystkich współautorów publikacji, w których wyszczególniono charakter ich udziału w trakcie powstawania tych prac, a także udział procentowy w całkowitym wkładzie danej osoby w ostateczną wersję danej publikacji naukowej.

Wyspecyfikowane powyżej prace ukazały się w latach 2015 (1 praca) – 2017 (2 prace) w czasopiśmie uwzględnionych w bazie *Journal Citation Report*, posiadających tzw. wskaźnik wpływu (z ang. „*Impact Factor*”). Ich sumaryczny *Impact Factor* (zgodnie z rokiem ukazania się danych publikacji; wg *Web of Science Core Collection*) wynosi 2,502. Całkowita liczba punktów przedmiotowych publikacji, wg *Ujednoliconego wykazu czasopism* Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW), wynosi 65 pkt. Wszystkie publikacje mają charakter wieloautorski: praca I (6 autorów), praca II (4 autorów), praca III (4 autorów). Doktorantka we wszystkich pracach jest ich pierwszym autorem. Co warte odnotowania, pełni Ona również funkcję autora korespondującego (we wszystkich publikacjach). Świadectwem bardzo istotnego wkładu Kandydatki w finalne powstanie tych opracowań jest Jej wkład procentowy, który został oszacowany na 65% (praca I), 60% (praca II) i 80% (praca III). We wszystkich opracowaniach pełniła Ona rolę przypisywaną „*senior author*”. Jej indywidualny wkład, zgodnie z *Oświadczeniami Autora o udziale w publikacjach*, polegał bowiem na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części

eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników, zbieraniu piśmiennictwa i przygotowywaniu manuskryptów.

Z formalnego punktu widzenia stwierdzam, że cykl publikacji zgłoszony przez Kandydatkę jako rozprawa doktorska spełnia wymagania określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

Ocena merytoryczna rozprawy

Publikacje wchodzące w skład rozprawy mgr Katarzyny Stańczak ukazały się renomowanych czasopismach, a co się z tym wiąże zostały już poddane gruntownej ocenie merytorycznej i formalnej. W związku z powyższym moja rola recenzenta może ograniczyć się do ocenienia spójności tematycznej rzeczonych publikacji i zasadności ich potraktowania jako monotematycznego cyklu publikacji składających się na rozprawę doktorską (w myśl wymagań obowiązującej Ustawy o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki).

Zasadniczym celem rozprawy było opracowanie i optymalizacja technik masowego znakowania stadiów larwalnych i młodocianych trzech gatunków ryb za pomocą metody *per os*, tj. diety wzbogaconej barwnikami fluorescencyjnymi (solowca i paszy komponowanej). Przeprowadzono również walidację efektów znakowania i wpływu tego zabiegu na stan kondycyjny znakowanych ryb. W istocie, wszystkie trzy prace w całości wpisują się w cel zasadniczy przedmiotowej rozprawy, a głównym czynnikiem je różnicującym są obiekty badań, tj. określone gatunki. Obiektem badań w *pracy I* był jaź, *pracy II* miętus, a *pracy III* sielawa. Co istotne, wyniki badań uzyskane w *pracy I* stanowiły koncepcyjną podstawę kolejnych publikacji, tj. *pracy II* i *pracy III*, a to jest chyba najlepszym wyznacznikiem ich spójności merytorycznej i tematycznej.

Wysoko oceniam koncepcyjne atrybuty pracy I. Kandydatka w pierwszym etapie tych badań opracowała technikę wzbogacania pokarmu żywego (solowca) barwnikami fluorescencyjnymi. Na podstawie przeglądu literatury i własnych, wcześniejszych doświadczeń, jak i zespołu olsztyńskiego zajmującego się tą problematyką do badań wybrano trzy barwniki (Alizarynę Red S, chlorowodurek tetracykliny i kalceinę). Analizie poddano różne stężenia barwników i czasy ekspozycji solowca na wodny roztwór danego fluorochromu. Po immersji oceniono wysycenie solowca barwnikiem i na tej podstawie wytypowano optymalne parametry wzbogacania solowca danym barwnikiem (tj. stężenie i czas). Uzyskane wyniki zostały wykorzystane we wszystkich trzech pracach podczas

znakowania kolejnych taksonów. Dodatkowo, planując założenia metodyczne do *pracy III*, poświęconej sielawie, sprawdzono utrzymywanie się wysycenia naupliśców solowca barwnikami po ich zamrożeniu. Badania opublikowane w cyklu artykułów naukowych zostały metodycznie ciekawie i przemyślanie zaprojektowane. Opracowanie uzyskanych wyników niewątpliwie było bardzo pracochłonne, szczególnie część laboratoryjna dotycząca preparowania i analizy otolitów.

Badania przeprowadzone przez Kandydatkę zaowocowały oryginalnymi, bardzo ciekawymi wynikami i to zarówno w kontekście poznawczym, jak i aplikacyjnym. Za szczególnie wartościowe uważam:

- (i) opracowanie wystandardyzowanej techniki produkcji „znakowanego” pokarmu żywego, nośnika barwników fluorochromowych;
- (ii) wybór nośnika/donora barwników, czyli naupliśców solowca (*praca I, II, III*) i paszy komponowanej (*praca II*), czyli diet najpowszechniej stosowanych w komercyjnych obiektach wylęgarniczo-podchowalniczych, czy też podchowalniczych, co oczywiście podnosi aplikacyjność badań;
- (iii) opracowanie optymalnej, skutecznej i bezpiecznej dla badanych gatunków, procedury masowego znakowania larw jazia (*praca I*), larw i stadiów młodocianych miętusa (*praca II*) i larw sielawy (*praca III*) metodą *per os*;
- (iv) wykazanie specyfiki gatunkowej w kontekście efektów znakowania badanymi barwnikami, np. w przypadku jazia (*praca I*) najlepsze efekty znakowania uzyskano w przypadku alizaryny, a sielawy (*praca III*) skuteczniejszy okazał się chlorowodurek tetracykliny;
- (v) udowodnienie, że efekty znakowania barwnikami fluorochromowymi mogą być zależne od stadium rozwoju osobniczego danego gatunku. Zjawisko takie odnotowano u larw miętusa, u którego znakowanie osobników w wieku 22 dni po wykluciu było skuteczniejsze niż larw młodszych, tj. 12 dniowych (*praca II*);

Fakt, na który sam osobiście zwróciłem szczególną uwagę, chyba z racji charakteru instytucji, którą reprezentuję są utylitarne aspekty założeń koncepcyjnych badań prowadzonych przez Kandydatkę. Tak odbieram na przykład próbę podjęcia znakowania larw sielawy mrożonym, wzbogaconym barwnikami solowcem. Opracowanie takiej procedury, choć wymaga ona chyba jeszcze dopracowania, może stanowić duże udogodnienie w pracy wylęgarniczej. Dodatkowo, opracowana przez Doktorantkę metoda znakowania ryb markerami fluorescencyjnymi metodą *per os* posiada istotne przymioty

praktyczne, w porównaniu z techniką immersyjną. Jest tańsza, umożliwia znakowanie zarówno stadiów larwalnych, jak i młodocianych, i co równie istotne, bezpieczniejsza dla środowiska. Co godne odnotowania wszystkie publikacje wchodzące w skład dysertacji wieńczą praktyczne wytyczne dotyczące aplikacyjnego zastosowania opracowanych technik.

Uwagi krytyczne

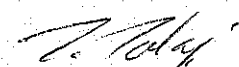
Do publikacji składających się na recenzowaną rozprawę nie wnoszę żadnych uwag. Pewne drobne zastrzeżenia mam co do kompilacyjnego opracowania tych prac. Moim zdaniem trochę niefortunnie został sformułowany tytuł rozprawy. Obiektem prezentowanych badań były nie tylko stadia młodociane ryb, ale głównie larwy. Dlatego fakt ten powinien być również odnotowany w tytule rozprawy. W moim odczuciu część Wniosków zawartych w rozprawie ma charakter za bardzo wynikowy. Trochę zabrakło mi też wyznaczenia kierunku dalszych badań w zakresie poruszanej w rozprawie problematyki. Wysunięcie tego typu postulatów byłoby z pewnością cennym uzupełnieniem rozprawy.

Podsumowanie

Recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr. Katarzyny Stańczak bezsprzecznie jest dziełem oryginalnym. Składający się nań cykl trzech publikacji jest spójny tematycznie. Uzyskane wyniki badań stanowią istotny wkład w rozwój dyscypliny wiedzy rybaństwo. Analiza przesłanej dokumentacji jednoznacznie wskazuje, że Doktorantka we wszystkich trzech publikacjach, składających się na rozprawę doktorską, pełniła funkcję lidera zespołu sygnującego te prace. Dowodzi to, że posiada Ona, jakże istotne dla pracownika nauki umiejętności planowania i realizacji ambitnych zamierzeń naukowych.

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Stańczak w pełni spełnia wymagania stawiane tego rodzaju opracowaniom w *Ustawie o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki* z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na wysoki poziom merytoryczny przeprowadzonych badań zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Środowisku Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z wnioskiem o wyróżnienie przedmiotowej rozprawy doktorskiej, pod warunkiem pomyślnego przebiegu jej obrony, stosowną nagrodą.


prof. dr hab. inż. Zdzisław Zakęś