Prof. dr hab. Andrzej K. Siwicki, profesor zwyczajny
Zakład Ichtiopatologii i Ochrony Zdrowia Ryb
Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Ganny Sych
pt. „Wpływ diety zawierającej β-glukan na wybrane parametry systemu odpornościowego karpia (*Cyprinus carpio* L."
wykonanej w Zakładzie Ichtiobiologii i Gospodarki Rybackiej PAN w Gołyszu
pod kierunkiem naukowym dr hab. inż. Andrzeja Pilarczyka, prof. PAN
oraz promotora pomocniczego dr Ilgiza Irnazarowa.

Podstawa prawna recenzji

Na podstawie uchwały Rady Wydziału Nauk o Zwierzętach SGGW w Warszawie z dnia 22.05.2018 r. oraz udostępnionych dokumentów, przekazanych przez dr hab. Marcina Gołębiewskiego, prof. SGGW, Dyrektora Instytutu Nauk o Zwierzętach SGGW w Warszawie (pismo nr INZ-41/2021 z dnia 22.04.2021 r.), przygotowano ocenę rozprawy doktorskiej zgodnie z kryteriami określonymi w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr. 65, poz.595) z późniejszymi zmianami z dnia 15 września 2017 r (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789) oraz zgodnie z art. 175. 1. Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. (Dz.U. 2018 poz.1669).

Ocena rozprawy doktorskiej

Immunoprofilaktyka nieswoista czy ogólna, tak dynamicznie rozwijająca się nauka w ostatnich latach, stworzyła nowe możliwości w ochronie zdrowia ryb i w znaczący sposób przyczyniła się do ograniczenia stosowania antybiotyków czy innych chemioterapeutyków w chowie i hodowli ryb. Stosowanie naturalnych oraz syntetycznych immunomodulatorów w intensywnych systemach podchowu kontrolowanego różnych gatunków ryb stało się podstawowym zabiegiem przyczyniającym się do ograniczenia strat powodowanych chorobami infekcyjnymi

czy środowiskowymi, co zostało udokumentowane i przedstawione na Konferencji European Association of Fish Pathologists EAFP w Porto, Portugala, 2019 r. „Significance of immunomodulators in control of aquatic animal health – over 30 years of application and actual possibility".

Wybór tematu i celowość podjętych badań przez doktorantkę jest w pełni uzasadniony. Podejmuje się Ona trudnego zadania mającego na celu określenie wpływu naturalnego immunomodulatora β-glukanu zawartego w preparacie Macrogard (Biorigin Scandinavia, Norwegia) i podawanego w paszy, na rozwój i funkcjonowanie systemu immunologicznego karpia w pierwszych tygodniach życia oraz na odporność przeciwzakaźną po eksperymentalnym zakażeniu kroczka karpia patogenną bakterią *Aeromonas salmonicida*. Wybór naturalnego immunomodulatora oraz podjęcie ukierunkowanych badań nad jego wpływem na nieswoiste mechanizmy obronne jest w pełni uzasadnione pod względem praktycznym i naukowym.

Otrzymana do recenzji, po uzupełnieniach i poprawkach, praca doktorska posiada klasyczny układ dla tego typu opracowań na stopień naukowy. Została przedstawiona na 77 stronach z uwzględnieniem 15 rycin oraz 2 tabel. Podzielona jest na 7 rozdziałów obejmujących: wprowadzenie, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja wyników, podsumowanie i wnioski oraz piśmiennictwo. Streszczenie w języku polskim i angielskim zostało zamieszczone na początku dysertacji przed spisem treści, natomiast wykaz skrótów po spisie treści, co jest rzadko stosowane w tego typu opracowaniach na stopień naukowy.

Cytowane piśmiennictwo zamyka się liczbą 174 pozycji literaturowych. Dobór piśmiennictwa wskazuje na ograniczone możliwości poszukiwania bogatej w tym zakresie literatury źródłowej. Wiele bardzo cennych publikacji zostało pominiętych. Dotyczy to szczególnie publikacji opisujących wpływ naturalnych i syntetycznych preparatów na nieswoiste mechanizmy obronne czy najnowsze metody stosowane w ocenie immunomodulatorów na komórkowe i humoralne mechanizmy obronne i odporność przeciwzakaźną u karpia i u innych gatunków ryb hodowlanych.

Przedstawiona do recenzji dysertacja napisana jest poprawnym językiem. Autorka jednak, nie ustrzegła się błędów językowych, czy nieprawidłowego użycia nazewnictwa fachowego. Klasyczny układ rozprawy rozpoczyna rozdział „Wprowadzenie", zawarty na 12 stronach, którego celem było wprowadzenie czytającego w zagadnienia związane z najnowszymi danymi dotyczącymi mechanizmów obronnych czy aktualnego stanu wiedzy na temat immunoprofilaktyki

nieswoistej w ochronie zdrowia ryb. Niestety cel ten nie został w pełni osiągnięty, pomimo dokonanych przez doktorantkę znaczących zmian i uzupełnień przy opisie:
- najnowszych danych dotyczących immunologii ryb,
- immunomodulatorów naturalnych i syntetycznych stosowanych w akwakulturze oraz
- efektów ich działania.

Cel pracy zawarty w następnym wydzielonym rozdziale sformułowany jest mało przekonywująco. Autorka starała się przedstawić dwa kierunki badań, które zaplanowała do realizacji w ramach dysertacji, ale ich przedstawienie jest bardzo skrótowe i nie w pełni zrozumiałe.

Rozdział „Materiał i Metody" podzielony jest na 2 podrozdziały, w których autorka przedstawiła materiał badawczy i warunki eksperymentów dotyczących:
- wpływu diety zawierającej β – glukan na odporność nieswoistą narybku karpia,
- oceny stymulującego działania β – glukanu na wrodzoną odpowiedź odpornościową karpia zakażonego eksperymentalnie patogenną bakterią *Aeromonas salmonicida*.

Natomiast w drugiej części rozdziału przedstawiono procedury pobierania próbek do badań oraz opisano metody badawcze użyte do oceny wpływu badanego immunomodulatora na wybrane parametry odporności wrodzonej. Ta część dysertacji budziła szereg zastrzeżeń natury merytorycznej. Zostały one częściowo wyjaśnione i uzupełnione w treści nowej wersji dysertacji. Przedstawiono w sposób przekonywujący procedury pobierania próbek ryb i przygotowanie homogenatu oraz pobierania krwi w celu uzyskania surowicy. Miało to istotne znaczenie dla wiarygodności wykonanych dalszych badań przy zastosowaniu metod użytych do oceny działania zastosowanego w dysertacji immunomodulatora naturalnego.

W podrozdziale „Pobieranie próbek i metody analizy" autorka bardzo zwięźle przedstawia metody oznaczania poziomu białka całkowitego w surowicy czy zawartości globulin oraz stosunku albumin do globulin w homogenacie. Również opis metody oznaczania aktywności lizozymu w homogenacie i w surowicy jest przedstawiony zrozumiale. Pozostałe metody badawcze użyte w realizacji badań zaplanowanych w ramach dysertacji zostały uzupełnione i przedstawione w sposób zrozumiały. Jednakże należy stwierdzić, że zastosowane techniki badawcze w większości zaliczane są do przestarzałych i obecnie niestosowanych w immunologii porównawczej. Jedynie zastosowane metody RT qPCR do określenie ekspresji izoform A2M i genów dopełniacza zaliczane są do nowoczesnych metod stosowanych w immunologii molekularnej.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników badań jest prawidłowa, przy zastosowaniu programu do obliczeń statystycznych MedCalc oraz systemem oceny istotności ANOVA z powtarzanym pomiarem. Wyniki badań po analizie statystycznej przedstawiono jako średnie z odchyleniem standardowym ($p< 0,05$ czy $p<0,01$).

Wyniki badań prezentowane w następnym rozdziale „Wyniki Badań", przedstawiono w formie opracowań graficznych na 15 rycinach. Uzupełniono opisy rycin oraz przedstawiono prawidłową ich numerację. Jednakże należy stwierdzić, że nadal szereg rycin nie jest oryginalnych, lecz są skopiowane z publikacji Sych G, Frost P, Iznazarow I, (2013), co nie jest praktykowane w tego typu opracowaniach na stopień naukowy doktora. Doktorantka mogła z łatwością odtworzyć szereg rycin i przedstawić je w oryginalnej wersji.

Rozdział „Dyskusja Wyników Badań" to próba analizy uzyskanych przez doktorantkę wyników badań, na tle dostępnej literatury źródłowej. Konfrontacja wyników badań z wynikami uzyskanymi przez wiodące w tym zakresie ośrodki naukowe na świecie została uzupełniona, ale nadal przedstawiona mało precyzyjnie z pominięciem szeregu prac o podstawowym znaczeniu dla wyjaśnienia wpływu naturalnych i syntetycznych immunomodulatorów na komórkowe i humoralne mechanizmy obronne u różnych gatunków ryb hodowlanych.

Po pełnej analizie pracy nasuwa się jeszcze kilka negatywnych uwag. Dotyczą one niezręcznych sformułowań czy braku w niektórych miejscach właściwej interpunkcji, których nie wymieniono w recenzji, a jedynie zaznaczono w tekście rozprawy, gdyż według mojej opinii nie rzutują one na wartość merytoryczną pracy.

Na podstawie dotychczasowej oceny stwierdzam, że mgr Ganna Sych uzupełniła i przedstawiła w sposób przekonywujący zagadnienia, które stanowiły temat dysertacji doktorskiej. W przedstawionej, poprawionej wersji udowodniła, że posiada wiedzę pozwalającą na realizację badań w zakresie wymaganym od pracownika ze stopniem naukowym doktora, a oceniana praca doktorska spełnia wymagania stawiane tego typu opracowaniom na stopień naukowy doktora.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Ganny Sych odpowiada w pełni warunkom stawianym tego typu opracowaniom na stopień naukowy doktora, które są szczegółowo określane w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr. 65,

poz.595) z późniejszymi zmianami z dnia 15 września 2017 r (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789) oraz zgodnie z Art. 175. 1. Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r (Dz.U. 2018 poz.1669). W związku z pozytywną oceną dysertacji doktorskiej przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Zwierzętach SGGW w Warszawie wniosek o dopuszczenie mgr Ganny Sych do publicznej obrony.

Olsztyn, dnia 20 maja 2021 r.

Prof. dr hab. Andrzej K. Siwicki
profesor zwyczajny