dr hab. inż. Jacek Rechulicz
Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów
Wydział Biologii Środowiskowej
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin, 24.08.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej pana mgra inż. Przemysława Piecha pt. " **Biotechnika rozrodu rozpióra (*Ballerus ballerus* L.) oraz wpływ wybranych czynników biotycznych i abiotycznych na wzrost oraz przeżywalność larw w warunkach kontrolowanych**"

Opracowanie recenzji rozprawy doktorskiej pana mgra inż. Przemysława Piecha pt.: "Biotechnika rozrodu rozpióra (*Ballerus ballerus* L.) oraz wpływ wybranych czynników biotycznych i abiotycznych na wzrost oraz przeżywalność larw w warunkach kontrolowanych" wykonano w związku z pismem wystosowanym przez Radę Naukową Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie. Rozprawa doktorska wykonana została na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt w Katedrze Ichtiologii i Akwakultury UWM w Olsztynie pod opieką naukową prof. dr. hab. Romana Kujawy.

Podstawą opiniowanej rozprawy doktorskiej są cztery tematycznie powiązane oryginalne publikacje naukowe ujęte przez Doktoranta pod w/w tytułem opublikowane w latach 2021 – 2023. Prace zostały opublikowane w dwóch renomowanych międzynarodowych czasopismach Animals i Fisheries & Aquatic Life, po dwie w każdym z nich. Czasopismo Animals posiada wskaźnik Impact factor na poziomie 3,231 natomiast czasopismo Fisheries & Aquatic Life nie posiada wskaźnika oddziaływania (IF), ale stanowi jedno z ważniejszych nielicznych czasopism w Polsce, którego tematyka związana jest z rybactwem i akwakulturą. Oba czasopisma posiadają według listy MEiN wysoką punktację na poziomie 100 pkt. Ogółem łączna punktacja przedstawionego do oceny dorobku Doktoranta wynosi 400 pkt. MEiN oraz łącznie 6,462 IF.

Ryby od początku funkcjonowania cywilizacji ludzkiej pełniły szereg ważnych funkcji począwszy od źródła pokarmu, na wykorzystaniu rekreacyjnym kończąc. Jednak ta grupa zwierząt ma przede wszystkim podstawowe znaczenie w funkcjonowaniu ekosystemów wodnych i wpływa na kształtowanie się w nich bioróżnorodności. W obliczu rozwoju cywilizacji stały spadek bioróżnorodności ekosystemów wodnych zmusza do podejmowania przez człowieka decyzji o wsparciu rozrodu naturalnego ryb także tych małocennych gospodarczo, wśród których można wymienić gatunek rozpiór (*Ballerus ballerus* L.) będący przedmiotem niniejszej rozprawy doktorskiej. Określenie optymalnych warunków rozrodu

w warunkach kontrolowanych wydaje się być także kluczowym zagadnieniem w sytuacji stałych zmian klimatu, w tym zmian temperatury, co jak wiemy może mieć wpływ na funkcjonowanie wszystkich organizmów w tym ryb, jako organizmów zmiennocieplnych. Poznanie warunków rozrodu kontrolowanego rozpióra (*Ballerus ballerus* L.) i ich zoptymalizowanie, w świetle przytoczonych argumentów wydaje się jak najbardziej zasadne i ma ściśle praktyczny aspekt mogący w przyszłości ułatwić rozród tego gatunku.

Doktorant w swojej dysertacji na podstawie analizy problemu badawczego oraz po zapoznaniu się z aktualnym stanem wiedzy dotyczącej rozrodu rozpióra postawił pięć hipotez badawczych, które były podstawą do sformułowania celu głównego rozprawy doktorskiej, którym było opracowanie biotechniki rozrodu rozpióra (*Ballerus ballerus* L.) oraz ustalenie wpływu wybranych czynników biotycznych i abiotycznych na wzrost oraz przeżywalność larw w warunkach kontrolowanych. Aby cel główny został zrealizowany Doktorant sformułował pięć celów szczegółowych, których realizacja była przedmiotem czterech przedstawionych powyżej oryginalnych publikacji.

Pierwsza praca dotyczyła opracowania, dotychczas nieopisanej, procedury rozrodu rozpióra w warunkach kontrolowanych. W eksperymencie rozrodczym zastosowano różne sposoby stymulacji hormonalnej (homogenat przysadki karpia (CHP), Ovopel, Ovoprim) w celu pozyskania gamet żeńskich rozpióra. Na podstawie oceny szeregu parametrów związanych z rozrodem m. in. skuteczności owulacji, ilość i masa pozyskanych gamet, określono efektywność zastosowanych stymulacji hormonalnych. Pomimo nieznacznie większej skuteczności Ovopelu okazało się, że tarlaki rozpióra są dość tolerancyjne i w niewielkim stopniu wrażliwe na parametry podczas rozrodu w warunkach kontrolowanych. O znaczącym wkładzie Doktoranta w przeprowadzenie eksperymentu oraz powstanie tej publikacji świadczy to, że jest on pierwszym z dwóch autorów tej publikacji.

W pracy drugiej autorzy odpowiedzieli na pytanie jak gęstość obsada i temperatura wody wpływają na parametry hodowlane larw rozpióra i ich przeżywalność w warunkach podchowu kontrolowanego w systemie zamkniętym. Przeprowadzone dwa eksperymenty podchowu larw rozpióra (pierwszy z różną obsadą i drugi w zróżnicowanych warunkach termicznych) wykazały że największe przyrosty zarówno długości całkowitej jak i masy ciała odnotowano u larw utrzymywanych w najmniejszym zagęszczeniu (20 os. dm^{-3}). Z kolei autorzy wykazali, że najwyższa temperatura podchowu wpływała na najszybszy wzrost długości całkowitej i większe przyrosty masy ciała larw rozpióra. Jednym z wniosków przedstawionych w podsumowaniu jest to, że larwy rozpióra są bardzo tolerancyjne na wysokie zagęszczenia obsady i wyższe temperatury wody. Autorzy w tej pracy sformułowali

także wskazówki praktyczne dotyczące optymalizacji warunków obsady i temperatury podchowu dla rozpióra. Według nich jak najmniejsze zagęszczenie obsady oraz temperatura wody 25°C podczas podchowu wpływały na lepsze parametry biologiczne ryb oraz pozwoliły optymalizować koszty podchowu poprzez obniżenie kosztów podgrzewania wody w systemach zamkniętych RAS. Omawiana praca ma 6 autorów, ale znaczący udział Doktoranta w jej powstaniu potwierdza to, że jest on pierwszym i korespondencyjnym autorem.

Trzecia publikacja (Doktorant jest pierwszym z dwóch autorów) dotyczy wpływu zastępowania paszy naturalnej paszą komercyjną i wpływu tych zabiegów na parametry wzrostu i przeżywalność rozpióra w warunkach kontrolowanych. Podczas doświadczeń z podchowem larw rozpióra pokarm naturalny (*Atremia* Sp.) zastępowano po różnych okresach czasu (po 4, 8 i 12 dobach) paszą komercyjną. Jak wykazali Autorzy największą przeżywalność i przyrosty rozpiór osiągnął w grupie ryb żywionych jak najdłużej paszą naturalną. Zdecydowanie najniższe wartości parametrów wzrostu i przeżywalności posiadały ryb żywione od początku podchowu paszą komercyjną. Uzyskane przez Autorów wyniki wskazują na konieczność stosowania w podchowie młodocianych form ryb paszy pochodzenia naturalnego, co jest bardzo istotne przy prowadzeniu rozrodu kontrolowanego nie tylko rozpióra, ale także innych gatunków ryb w akwakulturze.

Kolejna, czwarta w cyklu publikacja, dotyczy wpływu zasolenia wody na wzrost larw rozpióra w warunkach podchowu kontrolowanego. Doktorant jest w niej także pierwszym i korespondencyjnym autorem. Wyniki uzyskane podczas eksperymentu podchowu wykazały, że najlepsze parametry hodowlane wyrażone wzrostem długości, masy i przeżywalności larw rozpióra odnotowano w najmniejszym zasoleniu wody (3 ppm). Doświadczenie wykazało także, że zastosowanie wyższego zasolenia, nawet do 7 ppm, nie wpływało znacząco negatywnie na parametry hodowlane larw tego gatunku.

Wszystkie załączone prace stanowią spójny tematycznie i powiązany zbiór artykułów oparty, co warto podkreślić na eksperymentach hodowlanych, związanych z próbą ustalenia optymalnych warunków rozrodu kontrolowanego rozpióra (*Ballerus ballerus* L.) oraz określenia wpływu różnych parametrów podchowu na efektywność rozrodu, przeżywalność i parametry wzrostu larw tego gatunku. Warto zaznaczyć, iż łącznie prace te stanowią próbę ustalenie dotychczas nieopracowanych procedur i protokołów rozrodczych dla rozpióra (*Ballerus ballerus* L.), co moim zdaniem Doktorantowi się udało.

Wymienione powyżej artykuły w całości zostały zaprezentowane i obszernie omówione w przygotowanym opracowaniu (w języku polskim) na 71 stronach w formie

„klasycznej" rozprawy doktorskiej zawierającej: spis prac uwzględnionych w dysertacji, wykaz skrótów, wprowadzenie wraz z hipotezami badawczymi oraz celem pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, spis literatury (158 pozycji), streszczenie w języku polskim i angielskim, spis tabel, spis rysunków i zdjęć oraz załączniki.

Pomimo bardzo wysokiej jakości naukowej publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej opisująca to osiągnięcie część w języku polskim jest napisana jedynie poprawnie i zgodnie ze sztuką. Posiada ona także szereg niedociągnięć, nieścisłości i błędów edytorskich. Są to głównie błędy wynikające z niedopatrzeń edytorskich, niekiedy niestaranności i nie natrafiłem na nie w opublikowanych już pracach. Z obowiązku jaki nakłada na mnie funkcja recenzenta zmuszony jestem do wymienienia niektórych z nich w celu zmotywowania Doktoranta do stałego zwiększania swoich kompetencji w tym względzie i dalszego doskonalenia warsztatu naukowego.

Jako recenzent otrzymałem dwie wersje rozprawy doktorskiej: elektroniczną – pobraną z Archiwum Prac Dyplomowych (APD) i wersję papierową. Po przeglądzie tych dokumentów zauważyłem, że moja wersja papierowa jest nieco inna niż wersja elektroniczna. Otóż w wersji papierowej, którą otrzymałem pocztą brakuje strony 6 (pierwsza strona Wprowadzenia). Na szczęście miałem wersje elektroniczną z tą stroną, która pozwoliła mi całościowo ocenić dysertację.

Zastanowiły mnie także hipotezy badawcze sformułowane przez Doktoranta. Nie mam do nich większych zastrzeżeń, ale może warto byłoby je przemyśleć i nieco inaczej sformułować. Z doświadczenia wiem, że nie jest to łatwe (przynajmniej dla mnie). Doktorant sformułował wszystkie hipotezy podobnie brzmiące tj.:

H1: Efektywność rozrodu rozpióra zależy od stymulacji środkami hormonalnymi.

H2: Wzrost i przeżywalność larw zależna jest od temperatury wody.

H3: Wzrost i przeżywalność larw zależna jest od zagęszczenia obsady, itd.

Jak sięgnąłem do źródeł znalazłem taką definicje hipotezy badawczej: „Hipoteza badawcza – czyli przypuszczalna odpowiedź na pytanie badawcze. Najogólniej hipotezę badawczą można zdefiniować jako przypuszczenie/przewidywanie odnośnie przyszłej odpowiedzi na sformułowane wcześniej pytanie badawcze. Inna definicja mówi: „Hipoteza badawcza to zdanie twierdzące, dotyczące przewidywanego wyniku badania, skonstruowanego w celu uzyskania odpowiedzi na pytanie badawcze". Na wszystkie hipotezy przedstawione przez Doktoranta można by odpowiedzieć jednym słowem „tak", ale czy nam to coś wyjaśnia? Wiemy tylko, że - uogólniając - rozród „zależy" od wszystkich wymienionych czynników. W odniesieniu np. do hipotezy „H1" wiadome jest że stymulacja

wpływa na rozród, ale jak? W hipotezie można by na przykład zadać pytanie/przypuszczenie że np. stosowanie stymulacji hormonalnej zwiększa efektywność rozrodu. Inne hipotezy można by zapisać:
Np.: H2 - wyższa temperatura wody powoduje szybszy wzrost larw i ich lepszą przeżywalność i dalej H3 – Większe zagęszczenie wpływa na słabsze parametry wzrostu i przeżywalności larw.
Ponadto Doktorant w swojej dysertacji zastosował hipotezy niekierunkowe, które różnią się od kierunkowych tym, że są bardzo ogólne. Wydaje mi się, że można by tu zastosować hipotezy kierunkowe, które stawiamy wtedy, gdy na bazie wyników innych badań i wiedzy opartej o literaturę przewidujemy konkretny kierunek mierzonego efektu. Zakładam że Doktorant zna bardzo dobrze literaturę a zarazem praktyczną stronę rozrodu ryb i w związku z tym mógłby przewidzieć wynik rozrodu rozpióra na bazie wiedzy o rozrodzie innych gatunków ryb. Oczywiście są to tylko pewne moje przemyślenia nie umniejszające jakości hipotez badawczych przedstawionych w dysertacji przez Doktoranta, ale także i mnie zmusiły one do refleksji i głębszego zastanowienia się nad formułowanymi w przyszłości hipotezami badawczymi.

W pracy można natrafić na drobne literówki np.: strona 23 wiersz drugi pod tabelą – powinno być „… samice stymulowane były ….” a jest „… samice stymulowanej były …..”

W tabeli 4 (str. 24) – brak opisu indeksów podanych przy wartościach. Ponadto tytuł nieco nie koresponduje z treścią tabeli: „Wpływ różnych czynników hormonalnych na ilość i jakość ikry podczas sztucznego rozmnażania *Ballerus ballerus* (L.). Jako pierwszy parametr jest podana masa samic – a miała być ikra? Poza tym słowo „rozmnażanie” w tym tytule zastąpiłbym słowem „rozród”. W wierszu „masa samic” w kolumnie Ovoprim III brak znaku „±”.
Przy zdjęciach fot. 3 – 9 warto byłoby dodać wielkość powiększenia lub podziałkę – skalę. Wydaje się, że każde z tych zdjęć jest robione przy różnych powiększeniach.

W części dotyczącej opisu wyników można natrafić na moim zdaniem niezbyt fortunne sformułowania np.: (str. 28 wiersz 3 od góry) „Najmniejsze larwy uzyskano w wodzie o temperaturze ….” Wydaje mi się, że poprawniej byłoby napisać „Najmniejsze wymiary długości i masy ciała stwierdzono u larw podchowywanych (czy utrzymywanych) w wodzie

o temperaturze …..” w tekście kilka razy można natrafić na takie sformułowania czy skróty myślowe.

W tekście w części wynikowej w bardzo wielu miejscach jednostki powinny być podawana przy wartościach a nie przy wartości odchylenia (np. str. 28 wiersz 5: 16,8 (±1,14 mm). Moim zdaniem zapis ten powinien być następujący: 16,8 mm ± 1,14. W publikacjach już opublikowanych jest to podawane w taki właśnie sposób.

Niejednolity zapis poziomu istotności różnic w opisie metod statystycznych. Raz jest $p<0,05$ (patrz: str. 22 wiersz 17 od góry), innym razem $P\leq0,05$ (patrz: str. 22 wiersz 20 od góry). Warto to w opisowej części ujednolicić pomimo, że na przykład wymogi czasopism mogły być różne.

Wnioski

Uważam że wniosek 2 powinien być zmieniony na dwa wnioski, oddzielny dla temperatury jako parametru podchowu i oddzielny wniosek dla zagęszczenia jako parametru podchowu. Zresztą taką narrację narzucił Doktorant przy ustalaniu hipotez badawczych.

Wniosek 3 dotyczący zastępowania pokarmu naturalnego paszą komercyjną – sugerowałbym nie używanie skrótów we wniosku (patrz: A12P9 – nic nam nie mówi) – można to opisać jako późniejsze, czy też po 12 dniach zastąpienia paszy naturalnej itd.

Literatura zestawiona z szeregiem niedoskonałości tj.

- w kilku pozycjach brak stron publikacji patrz: Cieśla i in. 2014, Kucharczyk i in 1999, Wolnicki 1996.
- niejednolity spis piśmiennictwa: raz są przytaczane skróty nazw czasopism (patrz pozycja np.: Elphick i in. 2011, Kucharczyk i in. 1999, Kwiatkowski i in. 2008) a w większości są pełne nazwy czasopism.
- niejednolite zapisy: raz przed numerami stron jest „przecinek” a innym razem „:” – „:” np. patrz Kompowski 1991, Karakatsouli i in. 2015, Skovrind i in. 2016.

Wymienione przeze mnie powyżej uwagi, niedociągnięcia i błędy edytorskie są stosunkowo łatwe do usunięcia, niekiedy wręcz „kosmetyczne”. Jednocześnie nie wpływają one na moją pozytywną opinię o osiągnięciu Doktoranta i jakości jego rozprawy doktorskiej. Mam nadzieję, że Doktorant podczas publicznej obrony ustosunkuje się do nich i rozwieje wszystkie wątpliwości.

Podsumowując jako recenzent bardzo wysoko oceniam wartość merytoryczną wszystkich artykułów wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Należy zaznaczyć, że opublikowane prace podlegały niekiedy dość rygorystycznym procedurom specjalistycznych

recenzji zewnętrznych oraz rad redakcyjnych, w których zostały opublikowane. Opis problematyki badawczej, założenia metodyczne, wykorzystane analizy statystyczne wskazują na dobry warsztat naukowy i umiejętność Doktoranta w formułowaniu tez, stawianiu pytań i hipotez naukowych. Jednocześnie forma prezentacji wyników doświadczeń oraz ich interpretacja, w każdej z ocenianych prac naukowych, tworzą logiczny ciąg zmierzający do udzielenia odpowiedzi na założone w poszczególnych artykułach cele, co z kolei umożliwiło zrealizować cele szczegółowe i cel ogólny oraz odpowiedzi na zdefiniowane w pracy doktorskiej hipotezy badawcze.

W każdej z publikacji przedstawionych jako rozprawa doktorska Doktorant pan mgr inż. Przemysław Piech jest pierwszym autorem, co podkreśla jego osobisty dorobek i dominujący wkład w przeprowadzenie badań i przygotowanie publikacji. Na uwagę zasługują także znaczące implikacje praktyczne prezentowanej pracy doktorskiej, co świadczy o głębokiej wiedzy i właściwym pojmowaniu przez Doktoranta roli nauki.

Podsumowując postawiony cel naukowy spełnia wymóg niezbędny dla uznania ocenianej rozprawy za odpowiadający poziomowi jakim powinna odznaczać się praca doktorska, ponieważ jego realizacja istotnie poszerza dotychczasową wiedzę oraz rozwiązuje oryginalny problem badawczy. Tym samym uważam, że warunek ustawowy jaki powinna spełniać praca doktorska w tym zakresie należy uznać za spełniony.

Wniosek końcowy

Konkludując stwierdzam z pełnym przekonaniem, że rozprawa doktorska pana mgra inż. Przemysława Piecha pt.: "Biotechnika rozrodu rozpióra (*Ballerus ballerus* L.) oraz wpływ wybranych czynników biotycznych i abiotycznych na wzrost oraz przeżywalność larw w warunkach kontrolowanych" spełnia wymogi określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742). W związku z tym wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie pana mgr. inż. Przemysława Piecha do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Jacek Rechulicz