Prof. dr hab. Elżbieta Brzuska
Polska Akademia Nauk, Zakład Ichtiobiologii
i Gospodarki Rybackiej w Gołyszu

Gołysz 07.12.2020 r.

# RECENZJA

## Rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Elizy Sikory

**" *Wpływ wybranych antagonistów dopaminy na rozród i odporność samic karasia pospolitego (Carassius carassius* L.)"**

wykonanej na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt w Katedrze Ichtiologii i Akwakultury, pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Krystyny Demskiej-Zakęś oraz dr inż. Daniela Żarskiego

Szeroko pojęte uwarunkowania ekonomiczne objęły również branżę rybacką. Istotnym elementem sukcesu ekonomicznego w hodowli i chowie ryb jest rozród, zapewniający uzyskanie licznego i zdrowego narybku. W związku z powyższym stosowane są różne preparaty farmakologiczne przeznaczane do indukowania owulacji i spermacji oraz zapewnienia dobrostanu tarlakom. Prowadzone są również badania nad wykorzystaniem nowych oraz znanych już środków chemicznych, umożliwiających uzyskiwanie coraz lepszych wyników rozrodu ryb. Do takich badań zaliczyć należy badania przedstawione w rozprawie doktorskiej Pani mgr Agnieszki Elizy Sikory.

Pracę zaprezentowano w formie zwartego maszynopisu obejmującego 86 stron. Treść podzielono na 10 rozdziałów.

Autorka podała 70 skrótów pojęć używanych w pracy, co pozwoliło na znaczne ograniczenie objętości tekstu i zwiększenie przejrzystości treści. W przytoczonych skrótach zabrakło tych, które Doktorantka wymieniła w dalszych częściach pracy, a symbolizowały one grupy samic, w których podawano testowane preparaty. Ponadto skrót „K" przyjęto jako symbol pierwiastka oraz grupy kontrolnej.

Na stronie 19, 10 w. od dołu znajduje się następujący zapis cyt. *„Następnego dnia dokonano przeglądu ryb, odseparowując osobniki w słabej kondycji, z uszkodzeniami ciała.."* Na tle tego koniecznym wydaje się podanie liczebności samic w obrębie badanych grup oraz celu

dokonywania pomiaru długości ciała samic. Zdaniem recenzenta niezwykle istotną informacją byłby wiek objętych badaniami samic.

Po zapoznaniu się z treścią zamieszczoną w podrozdziale 3.4 str. 30 nasuwają się następujące pytania:

1. Jakie czynniki klasyfikacji przyjęto w modelu liniowym analizy wariancji i jakie zmienne objęte były tą analizą ?,
2. jakie zmienne testowano testem Kruskala-Walisa ?,
3. jakie zmienne testowano „ANOVA rang Friedmana" oraz jaki był układ par?,
4. jakie zmienne testowano testem Wilcoxona?,
5. czy parametry można testować testami nieparametrycznymi ?. (vide str. 20,40,42,44).

Dla recenzenta nie jest zrozumiałe zamieszczone na początku podrozdziału stwierdzenie, cyt. "*...Wyniki eksperymentów in vivo były testowane w kierunku spełnienia założeń analizy wariancji: normalności rozkładu i jednorodności wariancji*".

Przytoczona w dysertacji literatura obejmuje 151 pozycji oraz 5 pozycji zaczerpniętych z Internetu, a także 3 pozycje, mieszczące się w zakresie rozporządzeń, dyrektyw, raportów i norm.

Zdaniem Autorki podjęte w pracy badania znajdują uzasadnienie w potrzebie kompleksowej oceny oddziaływania preparatów farmakologicznych na organizm tarlaków w związku z doskonaleniem lub/i wprowadzaniem nowych protokołów kontrolowanego rozrodu ryb, w których stosowane są preparaty z grupy antagonistów receptorów dopaminy.

Autorka podjęła ogromny wysiłek badawczy w celu przeprowadzenia analizy ich wpływu na funkcjonowanie osi HPG, dojrzewanie oocytów, poziom stresu i odporność samic karasia pospolitego.

Przytaczając we wstępie 63 pozycje - zdaniem recenzenta - właściwie dobranej literatury i zawartych w niej treściach Doktorantka dokumentuje, iż starannie i w szerokim spektrum pogłębiała wiedzę, zapoznając się ze stosowanymi przez różnych autorów metodami badań oraz prezentowanymi przez nich wynikami. Na tle tego można stwierdzić, że Autorka bardzo dobrze przygotowała się do podjęcia badań nad zagadnieniami, które podjęła w pracy doktorskiej.

Jako cel badawczy - bardzo ambitny - Pani mgr Sikora przyjęła ocenę wpływu wybranych antagonistów dopaminy na rozród, poziom stresu i odporność samic karasia pospolitego oraz określenie mechanizmów ich oddziaływania na te procesy.

Doktorantka uzasadnia trafnie dlaczego podjęła przedstawione badania oraz z jakich powodów badania te realizowała na karasiu pospolitym, gatunku którego liczebność populacji w środowisku naturalnym uległa w ostatnich latach drastycznemu zmniejszeniu.

Autorka postawiła pięć hipotez badawczych.

Hipotezy te Autorka weryfikowała zgodnie z rekomendacjami Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach, podając następujące preparaty farmakologiczne do indukowania dojrzewania samic: Ovopel, Metoklopramid, Ovaprim, Domperidon oraz sól fizjologiczną jako kontrolę.

W rozdziale Materiał i Metody p. mgr Sikora szeroko i precyzyjnie opisała materiał badawczy oraz podjęte działania i stosowane procedury badawcze – oddzielnie dla badań *in vivo*, a oddzielnie *in vitro*.

W obrębie badań przeprowadzonych *in vivo* Autorka wyszczególniła działania i procedury odnoszące się do: analizy stopnia dojrzałości samic, analizy ekspresji genów cgnrh-II w mózgu oraz lhβ i fshβ w przysadce mózgowej, oznaczenia poziomu hormonów LH, FSH, E, 17α20β-DPH i KT w osoczu krwi, analiz, w których oznaczono wskaźniki hematologiczne i biochemiczne. W obrębie badań przeprowadzonych *in vi*tro Doktorantka podała w sposób precyzyjny metodykę odnośnie pomiaru wybuchu tlenowego oraz oznaczenia leukogramu i aktywności fagocytarnej.

Poboru materiału do badań *in vivo* Pani mgr Sikora dokonywała po upływie 10 godzin od wykonania iniekcji testowanych preparatów. W celu określenia stopnia dojrzałości samic z jamy ciała wypreparowywane były gonady, z których pobierała próbki 30-50 oocytów. Stopień dojrzałości samic oceniała na podstawie położenia w oocytach jądra komórkowego, rozróżniając 4 stadia dojrzałości oocytów o średnicy ~ 1 mm.

Materiał do badań *in vitro* stanowiła izolowana krew pełna dojrzałych samic, którą poddano ekspozycji na badane preparaty. Do analiz statystycznych mgr Sikora wykorzystała program Statistica 13.0.

Podjęte przez Doktorantkę badania i uzyskane wyniki miały umożliwić ocenę trafności i weryfikację postawionych hipotez badawczych. W tym celu Autorka przeprowadziła imponującą liczbę różnego typu analiz, wykonanych na nowoczesnych urządzeniach przy wykorzystaniu adekwatnych procedur. Fakt ten zasługuje na szczególne podkreślenie, ponieważ z całą pewnością wymagało to od Autorki poświęcenia długiego czasu i ogromnego wysiłku nie tylko umysłowego - przy nabywaniu umiejętności obsługi aparatury, zapoznawaniu się z procedurami oraz programami komputerowymi .

Pani mgr Sikora w rozdziale Materiał i Metody podała, że w obliczeniach stosowała procedurę ANOWA, nie podała jednak, które cechy podlegały tej analizie oraz nie podała modelu liniowego przeprowadzanych obliczeń. Brak ten wydaje się istotny w świetle danych zamieszczonych w tabeli 1 str. 20. Analiza tych danych wskazuje, że zmienność osobnicza masy ciała samic była bardzo zróżnicowana. Nie uwzględnienie w obliczeniach masy ciała samic mogło znacznie obciążyć uzyskane wyniki.

Autorka zaprezentowała uzyskane w pracy wyniki w sposób opisowy oraz zestawiła je w 4 tabelach i zilustrowała na 10 wykresach.

Zdaniem recenzenta należy rozważyć potrzebę wielokrotnie przytaczanego w pracy zapisu „($p > 0,05$)" (vide strony. 31-44), ponieważ nie znajduje on żadnego merytorycznego uzasadnienia.

W opisach rysunków (4-12) oraz tabel (4-7) znajduje się zapis ... " *Dane wyrażono jako średnią ± SEM (n = 10)*. W związku z tym nasuwa się pytanie czy n= 10 oznacza, iż z każdej badanej grupy do obliczeń wzięto po 10 samic ?.

Przyjmując, że wartości „SEM" (podane w tabelach 4-7) są prostoliniowo zależne od odchylenia standardowego, a wartość dzielnika we wszystkich grupach była tak sama, to łatwo stwierdzić, że rozproszenie wartości wokół średniej było bardzo duże, a tym samym zmienność osobnicza była bardzo wysoka. Przy tak dużej zmienności osobniczej trudno w sposób jednoznaczny stwierdzić na ile ? i czy ? oceniany skutek jest wynikiem bezpośredniego działania badanego czynnika lub/i może wynikać z uwikłania i interakcji wielu nie uwzględnionych w badaniach przyczyn. Na tle tego dużej rozwagi i ostrożności wymaga interpretacja wyników, a zwłaszcza ich uogólnianie.

W rozdziale dyskusja Autorka przedstawiła uzyskane podczas swoich badań wyniki na tle wyników podobnych badań zaprezentowanych przez 88 autorów, którzy opublikowali prace w latach 1970 – 2019. Należy podkreślić, że 57 pozycji opublikowano w ostatnim 10 – leciu.

Należy szczególnie podkreślić, że sposób prezentowania i precyzowania sentencji w prowadzonej „dyskusji" wskazuje na to, że Autorka dysponuje ugruntowaną wiedzą teoretyczną - nabytą z literatury oraz praktyczną - uzyskaną i wzbogacaną podczas pracy badawczej. Potwierdzenie tego stwierdzenia dokumentuje „Streszczenie", w którym Autorka wykazała się dużą umiejętnością syntetycznego prezentowania faktografii.

W rozdziale „Wnioski" Doktorantka nie odniosła się bezpośrednio do postawionych hipotez badawczych. Należy jednak wyrazić duże uznanie dla faktu, iż Pani mgr A. Sikora

wykazała duże wyczucie i dojrzałą ostrożność podając jedynie stwierdzenia, a nie dokonała daleko idących uogólnień.

Podane w recenzji pytania i uwagi zaliczam do dyskusyjnych. Zakładam, że Autorka weźmie je pod uwagę przy przygotowaniu pracy do druku.

Reasumując z całym przekonaniem stwierdzam, iż na podstawie (**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. z 2017 r. poz 1789 ze zm.),** *w zw z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. przepisy wprowadzające – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.),* **Pani mgr Agnieszka Eliza Sikora** w pełni wywiązała się z wymogów stawianym tego typu dysertacjom i w związku z tym wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Elizy Sikory do dalszych etapów realizacji przewodu doktorskiego.

Przedstawiam również Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie wniosek o wyróżnienie rozprawy, ponieważ tak kompleksowych badań, odnośnie tematyki przedstawionej w ocenianej dysertacji nie napotkałam w światowej literaturze.

W mojej opinii rozprawa doktorska dokumentuje: zasób teoretycznej wiedzy nabytej przez Doktoranta z literatury odnośnie danej dyscypliny, opanowanie warsztatu badawczego, umiejętność posługiwania się współczesną aparaturą badawczą, korzystania z programów komputerowych niezbędnych przy opracowywaniu wyników, umiejętność formułowania tez badawczych, podjęty zakres badań uwzględniający poznawczą i utylitarną przydatność uzyskanych wyników, umiejętność zestawienia i interpretacji uzyskanych wyników, umiejętność porównywania uzyskanych wyników z odnośnymi wynikami podanymi przez innych autorów, umiejętność i trafność wyciągania wniosków z uzyskanych wyników badań, a także umiejętnością zwięzłego i przejrzystego prezentowania faktografii.

Uważam, że Pani mgr Agnieszka Eliza Sikora, spełniła wyżej wymienione uwarunkowania na poziomie bardzo znacznie odbiegającym in plus od wielu znanych mi dysertacji.

E. Brzuska

Elżbieta Brzuska