Dr hab. Stefan Dobosz
Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie
Zakład Hodowli Ryb Łososiowatych Rutki

Rutki 06.09.2021

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. wet. inż. Karoliny Naumowicz pt. „Wpływ kąpieli profilaktycznych na obraz patomorfologiczny wybranych narządów pstrąga tęczowego *Oncorhynchus mykiss (Walbaum, 1792)*"

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska została napisana pod kierownictwem naukowym Pana Profesora dr hab. Józefa Szarka w Katedrze Patofizjologii, Weterynarii Sądowej i Administracji, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej na UWM w Olsztynie. Promotorem pomocniczym jest dr inż. Anna Wiśniewska.

Oceniana rozprawa posiada klasyczny układ, w którym dokonano podziału na 7 podstawowych rozdziałów: streszczenie, wprowadzenie i przegląd piśmiennictwa, uzasadnienie i cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja, wnioski o łącznej objętości 188 stron maszynopisu, po których następują '"piśmiennictwo" (283 pozycje większość w języku angielskim), spis aktów normatywnych, spis tabel rycin i równań, wykaz symboli oznaczeń i skrótów.
Za streszczeniem „praca miała na celu określenie i porównanie wpływu jednorazowego, dwukrotnego i trzykrotnego stosowania kąpieli profilaktycznych z wykorzystaniem formaldehydu (w dawce 0,25 kg m^{-3}), chlorku sodu (w dawce 20 kg m^{-3}) i siarczanu miedzi (II) (w dawce 0,003 kg m^{-3}) na obraz patomorfologiczny skóry i skrzeli klinicznie zdrowych pstrągów tęczowych".
Rozprawa stanowi istotny wkład w prowadzonych działaniach mających na celu ograniczanie strat w hodowli ryb łososiowatych, poszerzającym aktualny stan wiedzy z zakresu poprawy warunków chowu, w szczególności ryby hodowlanej pstrąga tęczowego. Ma to bardzo istotne znaczenie gdyż obecnie stosowane metody komercyjne takie jak kuracje antybiotykowe nie przynoszą spodziewanych rezultatów, z powodu uodpornienia się patogenów oraz nowych przepisów ograniczających wprowadzanie antybiotyków do wód powierzchniowych.
Obecnie w hodowli pstrąga tęczowego bardzo szeroko stosowana jest profilaktyka, która zapobiega rozwijaniu się groźnych chorób powodujących dotkliwe straty dla hodowcy. W hodowli ryb łososiowatych szczególnie przy wysokich temperaturach wody kąpiele profilaktyczne stosuje się bez względu na stan chorobowy ryb, gdyż rozwój choroby może być już trudny do opanowania i spowodować duże straty w hodowli. Ale z drugiej strony stosowanie nadmiernych działań profilaktycznych może także prowadzić do strat w kolejnych fazach chowu.
Autorka podjęła się badań które miały na celu wykazanie stosowania kąpieli profilaktycznych na skórę i skrzela ryb.
W pierwszej części obszernego wprowadzenia Autorka przedstawiła charakterystykę i informacje o pozycji systematycznej rozsiedleniu i biologii pstrąga tęczowego oraz jego znaczenia jako gatunku udomowionego i sposobu jego hodowli. W tej części wydaje się, że jest nadmierna ilość informacji nie do końca związana z przedmiotem badań a dotycząca różnorodności podgatunków pstrąga tęczowego występującego w środowisku naturalnym.

Pominięto zmianę nazwy gatunku hodowlanego pstrąga tęczowego z Salmo gaidneri na Onchorynhus mykiss, W roku 1988 Amerykańskie Towarzystwo Rybackie (American Fisheries Society) na podstawie badań genetycznych (Berg and Farris 1984, Thomas i inni 1986, Gyllensten and Wilson 1987) zaliczyło udomowionego pstrąga tęczowego do rodzaju Oncorhynchus jednocześnie zmieniając nazwę gatunkową na mykiss.
W drugiej części omówiono obszernie stosowanie kąpieli profilaktycznych różnymi preparatami oraz regulacje prawne ich stosowania w gospodarce rybackiej.
W części trzeciej, czwartej, piątej i szóstej omówiono budowę anatomiczną i histologiczną oraz funkcję skóry i skrzeli, wpływ śluzu i odporności wrodzonej na odpowiedź układu odpornościowego.
„Materiał i metody" to rozdział podzielony na 7 podrozdziałów gdzie szczegółowo i kompetentnie przedstawiono materiał badawczy. Podano, że pstrągi tęczowe o średniej masie 88,87 g były w wieku 0+, co świadczy iż ryby pochodziły z intensywnego tuczu przez okres co najmniej 10 miesięcy, w mojej opinii brakuje danych dotyczących poziomu karmienia ryb w okresie adaptacji, co może wpływać też na stan fizjologiczny ryb podczas kąpieli. Przedstawiono także podział na grupy badawcze i schemat prowadzonych kąpieli. Następnie na badanym materiale po uśpieniu ryb przeprowadzono pomiary biometryczne i po pobraniu tkanek oceniono wskaźniki narządowe. Główny materiał badawczy stanowiły tkanki skóry i skrzeli pobrane od indywidualnych osobników poszczególnych grup doświadczalnych. Zakodowane pobrane tkanki poddane zostały obróbce histopatologicznej i przeprowadzono ocenę preparatów poziomu ich zmian morfologicznych przy pomocy mikroskopu świetlnego. Półilościowa metoda oceny wg Bernet i in., 1999, polegała na przypisaniu każdej obserwowanej zmiany histopatologicznej do odpowiedniego wzorca reakcji, a następnie określenia jej wskaźnika istotności oraz dokonania oceny stopnia nasilenia zmiany i rozmieszczenia jej w preparacie. Otrzymane dane poddano analizie statystycznej przy pomocy programu Statistica i odpowiednio dobranych testów.
Godnym uwagi i podkreślenia jest staranne i przemyślane przygotowanie schematu oraz przeprowadzenie doświadczenia w celu otrzymania odpowiedniego materiału badawczego przy odpowiednio dobranych metodach ich oceny z zastosowaniem specjalistycznych testów statystycznych.
Uzyskane wyniki przedstawiono obszernie ale przejrzyście ilustrując tekst wieloma tabelami i rycinami. Na początku opisano parametry wody występujące podczas doświadczenia. Analiza badań przeprowadzonych na 360 osobnikach umożliwiła ocenę wskaźników biometrycznych i narządowych, ocenę preparatów histopatologicznych skóry oraz skrzeli oraz ocenę współczynników całościowych dla wszystkich grup jak: zaburzeń krążenia krwi, zaburzeń wstecznych, zmian postępowych, zmian zapalnych oraz oceny histologicznej.
Rozdział zatytułowany „Dyskusja" podzielony jest na cztery części. W pierwszych dwóch częściach omówiono szeroko na tle literatury:

- czynniki wpływające na skuteczność kąpieli profilaktycznych,
- reakcje na uszkodzenia i mechanizmy naprawcze w skórze i skrzelach ryb,

W trzeciej i czwartej części omówiono wyniki wskaźników narządowych oraz zmian histopatologicznych spowodowanych kąpielami formaldehydem, chlorkiem sodu i siarczanem miedzi. Opierając się na tle aktualnego stanu wiedzy i starannie dobranej literaturze poddano je analizie.
Uzyskane przez Autorkę wyniki badań wskazują iż chlorek sodu przy jednokrotnej ekspozycji powoduje większe zróżnicowanie zmian niż jednokrotna ekspozycja na formalinę, a różnice pomiędzy tymi substancjami maleją wraz z ekspozycją na drugą i trzecią dawkę. Niezależnie od liczby dawek, zastosowanie kąpieli profilaktycznej z siarczanem miedzi powoduje wystąpienie największych całkowitych zmian w ocenie patomorfologicznej u pstrąga tęczowego, świadcząc o najwyższej toksyczności wśród badanych substancji. Zamknięcie

przepływu wody w trakcie kąpieli w grupach kontrolnych nie wpływa na występowanie zmian, niezależnie od powtórzeń w czasie.
Uzyskane rezultaty przedstawione zostały we wnioskach, które podzielono na 4 grupy dotyczące wpływu kąpieli profilaktycznych formaldehydem, chlorkiem sodu i siarczanem miedzi na obraz patomorfologiczny wybranych narządów pstrąga tęczowego. W sumie przedstawiono 26 wniosków. Część z nich nazwał bym elementami podsumowania. Byłoby właściwiej gdyby Autorka zatytułowała ten rozdział pracy „Podsumowanie i wnioski".
W moim odczuciu oceniana praca stanowi cenny wkład, głównie z punktu widzenia hodowców i dająca im odpowiedź, których preparatów używać jak często stosować, w zależności od warunków hodowlanych jak i rozwoju stanu chorobowego narybku.
Drobne uwagi to:
Szkoda, że Autorka nie użyła narybku o średniej masie w granicach 5- 30g średniej masy, gdyż przy tej wielkości narybku najczęściej stosuje się kąpiele profilaktyczne.
Obecnie odchodzi się od stosowania formaliny w kąpielach profilaktycznych narybku z powodu ograniczeń wprowadzania jej do środowiska, co zostało przedstawione w dysertacji, jedynie stosowana jest w kąpielach profilaktycznych ikry podczas inkubacji w wylęgarniach.
Obecnie stosuje się także kwaśne preparaty dezynfekcyjne na bazie kwasu nadoctowego (nieszkodliwego przy wprowadzaniu go do środowiska gdyż rozkłada się do nietoksycznych związków), ale zbyt częste kąpiele tymi preparatami często powodują nadmierne straty zgłaszane przez hodowców. W hodowli pstrąga tęczowego w okresie od masy 3 do 10 gram narybku stosuje się także kąpiele profilaktyczne chloraminą T, preparatem uważanym przez hodowców za bardzo skuteczny i często stosowany jest w nadmiernych dawkach. Preparaty te zostały wymienione w rozprawie i na pewno także analiza patomorfologiczna na skrzela i skórę narybku pstrąga tęczowego tych preparatów była by bardzo korzystna dla hodowli ryb łososiowatych, gdyż nie znany jest wpływ tych preparatów na ryby w dalszych etapach hodowli.
Podsumowując, pomimo tych drobnych uwag, wartość naukowa rozprawy lek. wet. inż. Karoliny Naumowicz polega na doskonale przemyślanej, logicznej i konsekwentnie zrealizowanej metodyce badań, odpowiednim doborze testów statystycznych, co pozwoliło na uzyskanie oryginalnych wyników dotyczących charakterystyki zmian histopatologicznych pod wpływem kąpieli profilaktycznych formaldehydem, chlorkiem sodu i siarczanem miedzi stosowanych w hodowli pstrąga tęczowego. Dlatego też sugeruję aby skrótowa forma rozprawy została wykorzystana dla szybkiego opublikowania w formie przystępnej dla praktyki.
Nie znalazłem błędów w pracy tak dotyczących piśmiennictwa jak i warsztatu redakcyjnego, co także świadczy o dużym zaangażowaniu promotorów w przygotowaniu dysertacji.

Stwierdzam, że przedstawione w ocenie argumenty upoważniają do oświadczenia, iż rozprawa w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim. Rekomenduję dopuszczenie lek. wet. inż. Karolinę Naumowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

S. Dul