dr hab. Maria Swiontek Brzezinska, prof. UMK
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych
Katedra Mikrobiologii Środowiskowej i Biotechnologii
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Recenzja

pracy doktorskiej mgr Jacka Arkadiusza Potorskiego pt. „Ocena potencjału probiotycznego szczepu *Carnobacterium maltaromaticum* w podchowie wybranych gatunków ryb", wykonanej w Katedrze Inżynierii Ochrony Wód i Mikrobiologii Środowiskowej, pod opieką naukową dr hab. Iwony Gołaś.

Przedstawiona do oceny praca doktorska mgr Jacka Arkadiusza Potorskiego prezentuje wyniki badań, których celem było określenie potencjału probiotycznego środowiskowego szczepu bakterii *Carnobacterium maltaromaticum* oraz zbadanie możliwości zastosowania tego izolatu w postaci dodatku do pasz stosowanych w hodowli ryb o różnych wymaganiach temperaturowych, jako metody wpływającej na wzrost dobrostanu wybranych gatunków ryb i efektywność ich podchowów w obiegach zamkniętych.

Tematyka badawcza jest bardzo interesująca i wnosi istotne informacje do nauk biologicznych związane z możliwością aplikacji izolatu *Carnobacterium maltaromaticum* do pasz stosowanych w hodowli ryb. Wprowadzenie preparatu probiotycznego wspomagającego żywienie ryb jest cennym doświadczeniem ze względu na wymagania odżywcze tych zwierząt. Stąd też za bardzo cenne uważam wyniki badań uzyskane przez pana mgr Jacka Arkadiusza Potorskiego.

Otrzymana do recenzji rozprawa doktorska posiada typowy układ dla opracowań w celu zdobycia stopnia naukowego. Napisana jest ona poprawnym językiem naukowym z prawidłowym użyciem nazewnictwa specjalistycznego. Tekst przedstawionej pracy mieści się na 130 stronach, z czego spis bibliografii stanowi 19 stron.

Rozprawę doktorską rozpoczyna część teoretyczna. Aktualny stan wiedzy obejmuje 12 stron tekstu i zawiera wprowadzenie w zagadnienia związane z hodowlą

ryb w obiektach akwakultury w Polsce. W tej części pracy Autor charakteryzuje również mikrobiota zwrotne w obiegach wody oraz dokładnie opisuje znaczenie probiotyków w żywieniu zwierząt. Rozdział ten jest zwartą, logiczną i dobrze skomponowaną częścią pracy, co wskazuje na dobrą znajomość badanych zagadnień i piśmiennictwa z tego zakresu. Autor przekonująco uzasadnia potrzebę podjęcia badań będących przedmiotem rozprawy doktorskiej.

Moje uwagi dotyczące tej części są następujące:

- ✓ w mojej opinii, autor mógłby rozbudować tę cześć pracy. Wydaje mi się ona zbyt krótka. Poważnym problemem w rybołówstwie są choroby bakteryjne. W tej części autor mógłby podać więcej informacji dotyczących statystycznego występowania zakażeń bakteryjnych ryb oraz w jaki sposób są one eliminowane. Może warto byłoby też podać, jakie jest rzeczywiste zastosowanie probiotyków w żywieniu ryb.
- ✓ autor nie uniknął drobnych błędów interpunkcyjnych np. na stronie 8 brakuje przecinka, brak przecinka przed zwrotem „a także"obserwowałam również w dalszej części rozprawy
- ✓ na stronie 10, autor opisuje bakterie jako gram – ujemnie, a w innych miejscach jako „Gram – dodatnie". Uważam, że zapis tej cechy w całej pracy powinien być jednakowy.
- ✓ na stronie 17 autor opisując bakterie z rodzaju *Carnobacterium* podaje, że są one niezarodnikujące. Ten termin stosuje się do charakterystyki grzybów. Poprawniejsze byłoby określenie „nieprzetrawalnikujące". Tym bardziej, że autor ten termin stosuje w dalszej części.

Kolejny rozdział stanowią Materiały i metody opisujące część doświadczalną pracy. Poprzedza go jasno sformułowany Cel główny i Cele szczegółowe pracy. Na podstawie założonego celu autor zweryfikował hipotezy badawcze. Część doświadczalna została podzielona na dwa rozdziały. Pierwszy z nich to materiały, w których autor podaje pochodzenie izolatu, jego identyfikację, gatunki ryb użyte w doświadczeniu oraz pasze stosowane w ich żywieniu. Drugi rozdział obejmuje główne metody stosowane w doświadczeniach. Ten rozdział podzielono na podrozdziały, w których Autor dokładnie opisuje poszczególne etapy badań. Rozdział Metody i Materiały obejmuje 26 stron, jest prawidłowo skomponowanym elementem pracy.

Zastosowane w pracy metody badawcze są jasno i czytelnie scharakteryzowane zgodnie z przyjętymi technikami mikrobiologicznymi i hodowlanymi. Autor wykorzystał zarówno techniki klasyczne jak i molekularne. W rozdziale tym, mgr Jacek Arkadiusz Potorskiego szczegółowo i kompletnie opisał metody wykonania badań przeżywalności, oporności na antybiotyki oraz aktywności metabolicznej izolatu *C. maltaromaticum*, badań mikrobiologicznych wody, ryb i pasz podczas eksperymentalnych podchowów narybku pstrąga tęczowego i suma afrykańskiego. W kolejnych podrozdziałach Autor opisuje techniki poboru ryb w trakcie eksperymentu i określenia parametrów hodowlanych narybku pstrąga tęczowego i suma afrykańskiego podczas eksperymentalnych podchowów. Autor dokonał również analizy składu chemicznego pasz i odchodów narybku pstrąga tęczowego i suma afrykańskiego oraz oznaczył współczynniki strawności składników pokarmowych pasz komercyjnych i suplementowanych izolatem probiotycznym *C. maltaromaticum*. Autor wykonał również analizę histologiczną jelit narybku pstrąga tęczowego i suma afrykańskiego. W tym rozdziale bardzo cenne i wartościowe są schematy wykonywanych analiz. Bardzo ułatwiają one zrozumienie całego eksperymentu. Zastosowane metody analiz statystycznych wydają się prawidłowe i pomocne w zweryfikowaniu tezy badawczej przedstawionej w rozprawie doktorskiej. Ta część pracy jest napisana bardzo dobrze. Opis metod badawczych nie budzi zastrzeżeń, zostały one prawidłowo wybrane i zastosowane.

W tej części mam następujące uwagi:

- ✓ dla mnie jest niejasne badanie przeżywalności izolatu probiotycznego w suchej paszy. Bakterie po wprowadzeniu do materiału suchego mogą tracić żywotność. Bakterie te są nieprzetrwalnikujące i ich liczebność może spadać. Jeśli taki preparat miałby mieć zastosowanie praktyczne, bakterie muszą zachować swoją koncentrację przez 2 lata. W przypadku spadku liczebności, preparat nie mógłby mieć zastosowania aplikacyjnego. Stąd moje pytanie, czy Autor podejmował próby badania przeżywalności izolatu po wprowadzeniu go do sterylnych pasz ? Takie doświadczenie daje nam odpowiedź jaka jest rzeczywista przeżywalność badanego izolatu w paszy.
- ✓ autor określając przeżywalność izolatu prowadził badania w wodzie ubogiej w substancje pokarmowe. Jak to była woda, skąd ona pochodziła ?

- ✓ w badaniach określających zdolność namnażania *C. maltaromaticum* w różnych temperaturach, autor nie podaje jaką liczebność miała zawiesina izolatu. Natomiast uważam, że Autor powinien podać jak przygotowywał zawiesinę do szczepienia podłoży. Czy to był zmyw ze skosu, czy Autor oznaczał gęstość optyczną w hodowli 24 godzinnej ?
- ✓ w badaniach określających tempo wzrostu szczepu *C. maltaromaticum* w optymalnych warunkach temperaturowych, Autor również podaje liczebność inoklulantu, ale nie podaje czy hodowla jest 24 godzinna czy starsza.
- ✓ przy określeniu aktywności metabolicznej izolatu przy zastosowaniu OmniLog®System, Autor podaje, że użył hodowli 24 godzinnej, ale nie podał jaka była gęstość optyczna zawiesiny.
- ✓ w podrozdziale „Żywienie ryb w trakcie podchowów eksperymentalnych" Autor podaje, że do pasz suplementowano 0,1% szczepu probiotycznego, jednak nie podaje jaka była liczebność tych bakterii w przeliczeniu na kilogram pasz. Informacja o liczebności izolatu suplementowanego do pasz jest podana w dalszym opisie metodyki. Jednak uważam, że informacje o liczebności tych bakterii powinna być wcześniej, w miejscu gdzie po raz pierwszy opisywana jest suplementacja.
- ✓ w tej części Autor również nie uniknął błędów interpunkcyjnych, jednak nie umniejszają one wartości pracy.

Kolejnym elementem pracy są wyniki eksperymentów. Autor przejrzyście przedstawił wyniki przeprowadzonych badań i ich interpretację. Opis wyników obejmuje 36 stron. Zestawienie obejmuje 12 tabel oraz 13 kolorowych opracowań graficznych. Tabele i rysunki są czytelne i przygotowane bardzo starannie. Ta część pracy jest skomponowana przejrzyście, wyniki są zreferowane szczegółowo i w sposób uporządkowany. Uzupełnieniem tego rozdziału pracy są szczegółowe informacje dotyczące wyników przeprowadzonych analiz statystycznych.

W tej części pracy moje wątpliwości budzą:

- ✓ w opisie „ Identyfikacja szczepu i jego charakterystyka fenotypowa" brakuje wyników dotyczących zdolność od fermentacji cukrów i zakwaszania podłoża hodowlanego

- ✓ Autor w badaniach nad przeżywalnością izolatu *C. maltaromaticum* uzyskał bardzo wysokie wyniki liczebności, rzędu 10^{12}- 10^{16} (strony 55, 56). W warunkach laboratoryjnych, biomasa licznych bakterii hodowana w warunkach tlenowych w ciągu 5 dni jest rzędu 10^{11} - 10^{12} jtk/ g. Czy Autor ma uzasadnienie tak wysokich wyników liczebności izolatu ?

- ✓ Autor w tym rozdziale również nie uniknął błędów edytorskich np. na stronie 49 powinno być „... *C. maltaromaticum* wykazywał zdolność do ...", na stronie 66 autor podaje zakres liczebności bakterii pisane czcionką prostą i kursywą. W tabelach również niektóre wartości liczbowe pisane są czcionką prostą, a inne wartości liczbowe pisane są kursywą. Czy taki zapis jest celowym działaniem ?

Następnym elementem rozprawy doktorskiej jest dyskusja. W tej części pracy Autor podjął próbę oceny uzyskanych wyników badań własnych na tle dostępnej literatury światowej. Autor ustosunkowuje się do wyników swoich badań, porównując je z danymi literaturowymi, wykazując przy tym dużą ostrożność interpretacyjną w odniesieniu do zebranych wyników, co dowodzi dojrzałości autora jako badacza. Dyskusja jest napisana bardzo starannie. Autor podzielił ją na podrozdziały, dzięki czemu jest ona przyjemna w czytaniu.

W tej części pracy moje uwagi są następujące:

- ✓ Autor porównując swoje wyniki badań do dostępnej literatury, podaje numery tabel, w której umieścił swoje wyniki np. na stronie 85 podaje tab. 6, na stronie 95 - tab. 15, na stronie 96 - tab. 16. Uważam, że w dyskusji zbędne jest odnoszenie się do numeracji tabel, tym bardziej, że są one umieszczone w rozdziale Wyniki.

Po dyskusji Autor przedstawia podsumowanie oraz bibliografię. Autor wykazał się bardzo dobrą znajomością literatury anglo – i polsko – językcznej. Autor cytuje 176 pozycji. Dobór bogatego oraz w głównej mierze najnowszego piśmiennictwa wskazuje na dużą dojrzałość naukową Autora i umiejętność wykorzystania literatury źródłowej. Literatura jest przygotowana starannie według założonego schematu.

W kolejnym rozdziale autor podaje spis tabel, rysunków i fotografii. Moją uwagę zwrócił brak wniosków. Proponuję, aby Autor umieścił wnioski końcowe w publikacji. Pracę kończy streszczenie w języku polskim i angielskim.

Po pełnej analizie pracy doktorskiej, przedstawione uwagi nie traktowałabym ich jedynie jako uwagi krytyczne, ale jako propozycje do rozważenia w dalszych badaniach. Moje komentarze zawarte w ocenie pracy doktorskiej mgr Jacka Arkadiusza Potorskiego nie wpływają na jej pozytywną ocenę merytoryczną. Autor wywiązał się znakomicie z realizacji podjętych zadań badawczych. Wyniki badań uważam za bardzo cenne. Pozwolą one uzupełnić luki w wiedzy na temat wykorzystania probiotyków w żywieniu ryb, co niewątpliwie zwiększy ich wartość odżywczą.

W związku z pozytywną oceną rozprawy doktorskiej przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej w Dyscyplinie Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie wniosek o dopuszczenie mgr Jacka Arkadiusza Potorskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Maria Swiontek Brzezinska

Toruń 07.01.2022 r.

dr hab. Maria Swiontek Brzezinska, prof. UMK