



Dr hab. Bożena Witek, prof. UJK
Zakład Fizjologii Zwierząt
25-406 Kielce, ul. Świętokrzyska 15
Tel. 041/ 349 6363

Kielce, 25.08. 2019.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Mateusza Cieplińskiego
pt. „Następstwa fizjologiczne u troci wędrowej (*Salmo trutta m. trutta*) objętej
wrzodziejącą martwicą skóry (*Ulcerative Dermal Necrosis – UDN*) – wybrane
zagadnienia”, wykonanej pod kierunkiem dr hab. Mariusza Kasprzaka**

Tematyka dysertacji zaproponowana przez Doktoranta wydaje się wysoce uzasadniona i ważna z praktycznego punktu widzenia, ponieważ troć wędrowna [*Salmo trutta m. trutta*] jest jednym z cenniejszych przyrodniczo i gospodarczo przedstawicieli ichtiofauny Pomorza. Z powodu wędrówek jakie wykonuje między zbiornikami słonymi, a słodkowodnymi w okresie tarła wykorzystywana jest jako gatunek biowskaźnikowy do oceny jakości środowiska wodnego. Przyczynkiem do podjęcia badań nad etiologią wrzodziejącej martwicy skóry [UDN] jest coraz większa liczba przypadków zachorowań troci wędrowej na tę chorobę.

Osiągnięciem naukowym będącym przedmiotem rozprawy doktorskiej mgr. Mateusza Cieplińskiego jest cykl trzech spójnych tematycznie prac opublikowanych w latach 2018-2019 pod wspólnym tytułem „Następstwa fizjologiczne u troci wędrowej (*Salmo trutta m. trutta*) objętej wrzodziejącą martwicą skóry (*Ulcerative Dermal Necrosis – UDN*) – wybrane zagadnienia”.

[1] Ciepliński M, Kasprzak M, Grandtke M, Giertych M, Steliga, A. 2018. Pattern of secondary infection with *Saprolegnia* spp. in wild spawners of UDN-affected sea trout *Salmo trutta m. trutta* (L.), the Słupia River, N Poland. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 47, 3, 239-238.

[2] Ciepliński M, Kasprzak M, Grandtke M, Steliga A, Kamiński P, Jerzak L. 2019. The effect of dipotassium EDTA and lithium heparin on hematologic values of farmed brown trout *Salmo trutta* (L.) spawners, *Aquaculture International*, 27, 1, 79-87.

[3] Ciepliński M, Kasprzak M, Grandtke M, Steliga A, Kamiński P, Jerzak L. 2018. The impact of UDN on selected blood parameters of female sea trout *Salmo trutta m. trutta* L. spawners. *Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis Studia Naturae*, 3, 7-16.

Prace składające się na „Osiągnięcie naukowe” dotyczą ważnego praktycznego problemu, jakim jest wrzodziejąca martwica skóry [UDN, *Ulcerative Dermal Necrosis*] – choroba atakująca głównie trocie i łososie migrujące z Bałtyku do rzek, aby tam odbyć tarło. Z powodu tej śmiertelnej choroby od kilkunastu już lat obserwuje się istotne zagrożenie stanu populacji troci wędrownej, również populacji dzikich. Poza chorobami, gatunek ten narażony jest też na zagrożenia cywilizacyjne związane z działalnością człowieka [elektrownie wodne, zapory, zanieczyszczenia wód rzek i jezior, kłusownictwo rybackie] z powodu których liczebność jego ulega systematycznemu zmniejszeniu. Komisja Ochrony Środowiska Morskiego Bałtyku [HELCOM] sugeruje nawet, by troć wędrowna znalazła się w grupie gatunków narażonych na wyginięcie, ponieważ obecnie uznawana jest przez Międzynarodową Unię Ochrony Przyrody [IUCN] za gatunek najmniejszej troski. Problem UDN znany jest od kilkunastu lat, jednak do tej pory etiologia tego schorzenia nie jest do końca poznana.

Praca 1 – Autorzy przyjęli tezę, że przyczyną śmiertelności ryb dotkniętych UDN jest wtórna infekcja powodowana przez grzyb z rodzaju *Saprolegnia parasitica*. Badania przeprowadzono na 106 osobnikach [44 samce, 62 samice] z widocznymi oznakami infekcji, odłowionych w okresie od listopada 2014 do 2015 roku podczas sztucznego tarła. Ustalono płeć badanych osobników, wykonano podstawowe pomiary morfometryczne [masa ciała, długość całkowita], badano rozmieszczenie wtórnych zmian chorobowych powodowanych przez UDN, sporządzono dokumentację fotograficzną tych zmian, oznaczono miejsca największych zmian objętych infekcją. Każdy obraz podzielono na 298 kwadratów, które analizowano przy pomocy programu GIMP 2.8.18. [the GIMP team, www.gimp.org, 1997-2016].

Analiza uzyskanej dokumentacji fotograficznej pozwoliła na ustalenie wzorców wtórnej infekcji oraz różnice wzorców infekcji między płciami. Opracowano wizualizowane wzorce infekcji, mapy rozmieszczenia tych zmian u obu płci, wskazano miejsca najbardziej narażone na infekcje u osobników obu płci oraz miejsca, które w dalszej kolejności są podatne na infekcje. Na podstawie tych obserwacji wykazano, że wzorce wtórnej infekcji osobników dotkniętych UDN związane są z dymorfizmem płciowym.

Szkoda, że badane osobniki nie były poddane ocenie mikrobiologicznej, wykorzystano jedynie wyniki innych badaczy wskazujące, że przyczyną charakterystycznych objawów UDN jest grzyb *Saprolegnia*, a przecież mogą być też bakterie z rodzaju *Aeromonas*.

Praca 2 – najłatwiejszym sposobem oceny stanu zdrowia ryb jest wykonanie badań krwi. Hematologia diagnostyczna ryb jest jednak trudnym wyzwaniem, ponieważ ze względu na krótki czas krzepnięcia krwi, niezbędne jest użycie odpowiedniego antykoagulantu.

Eksperyment przeprowadzono w 2017 roku na próbkach krwi uzyskanych od 35 dojrzałych osobników *Salmo trutta* (L.) w okresie tarła, z wykorzystaniem dwóch różnych antykoagulantów 1/ K₂EDTA (1,8 mg/ 2 ml krwi) oraz heparyny litowej (18 IU/2,5 ml krwi). W próbkach krwi oznaczono hematokryt [PCV], stężenie hemoglobiny [HGB], liczbę erytrocytów [RBC], średnią objętość erytrocytów [MCV], średnią masę hemoglobiny w erytrocycie [MCH], średnie stężenie hemoglobiny w erytrocycie [MCHC], liczbę leukocytów [WBC]. Analizę statystyczną uzyskanych wyników, celem oszacowania istotności wartości parametrów hematologicznych w wyniku zastosowania różnych antykoagulantów przeprowadzono w oparciu o program statystyczny Statistica 12.5 (StatSoft 2006).

Wykazano, że heparyna litowa jest antykoagulantem bardziej przydatnym do oceny hematologicznej troci wędrownej *Salmo trutta* (L.), niż K₂EDTA, ponieważ nie wykazuje wpływu na wielkość erytrocytów, co istotnie obniża ryzyko hemolizy. Według Autorów przy oznaczaniu liczby erytrocytów [RBC], leukocytów [WBC] oraz stężenia hemoglobiny [HGB] przy zachowaniu odpowiednich środków ostrożności można również stosować K₂EDTA, w tym celu konieczne są jednak dalsze badania.

W artykule nie podano płci badanych osobników.

Praca 3 – w próbkach krwi pobranych od 150 samic troci wędrownej [*Salmo trutta m. trutta* (L.)] odłowionych podczas kolejnych okresów tarła w latach 2014-2019 na rzece Słupia oznaczano liczbę erytrocytów [RBC], stężenie hemoglobiny [HGB], hematokryt [HCT], poziom białek całkowitych [TP], stężenie albumin oraz azot mocznika [BUN, *Blood Urea Nitrogen*], celem porównania wartości tych parametrów u osobników zdrowych [grupa 1], chorych na UDN [grupa 2] i osobników znajdujących się w stanie agonalnym [grupa 3].

Wykazano istotne zmniejszenie wartości badanych parametrów w grupie osobników chorych na UDN i znajdującym się w stanie agonalnym, świadczące o szybkim postępie choroby.

Wskazane są dalsze badania nad etiologią UDN, m.in. badanie parametrów środowiska wodnego [zanieczyszczenia, temperatura], weryfikacja mikrobiologiczna populacji oraz oznaczanie innych parametrów hematologicznych, bo wszystkie te czynniki mogą być przydatne przy ocenie kondycji ichtiofauny.

Artykuły składające się na „Osiągnięcie naukowe” są oryginalnymi pracami współautorskimi. We wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym autorem, a w dwóch dodatkowo autorem korespondencyjnym. Oświadczenia współautorów potwierdzają istotny wkład mgr. Mateusza Cieplińskiego w opracowaniu koncepcji badań, pobieranie i analizę materiału badawczego, analizę statystyczną, przygotowanie pracy do druku [praca 1 – 75%; praca 2 – 70%; praca 3 – 70%]. Dwie pierwsze prace zostały opublikowane w czasopiśmie z listy JCR o współczynniku oddziaływania IF 0,674 [praca 1] i 1,455 [praca 2] oraz liczbie punktów 15 i 20, odpowiednio. Wkład pracy Doktoranta w merytoryczną wartość „Osiągnięcia naukowego” oceniam jako wystarczający.

Uzyskane przez Doktoranta wyniki wnoszą nie tylko nowe istotne wartości poznawcze w badaniach nad UDN, ale przede wszystkim wiele cennych praktycznych danych interpretacyjnych, które mogą okazać się pomocne przy wyjaśnianiu patomechanizmów tego śmiertelnego schorzenia. Wysoko oceniam analizę hematologiczną wybranych parametrów krwi, jej interpretację u zdrowych i chorych osobników troci, opracowanie wzorców infekcji i wizualizację tych zmian u obu płci oraz wykazanie, że rozmieszczenie zmian zależy od płci. Wszystkie te wyniki mogą być wykorzystane jako kompleksowe narzędzie w ocenie stanu zdrowia i kondycji całej populacji, ale przede wszystkim w diagnostyce wczesnych stadiów wtórnej infekcji u wszystkich przedstawicieli łososiowatych, a związku z tym ograniczeniu rozprzestrzeniania się UDN na zdrowe osobniki.

Reasumując, uważam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa pt. „Następstwa fizjologiczne u troci wędrowej [*Salmo trutta m. trutta*] objętej wrzodziejącą martwicą skóry [*Ulcerative Dermal Necrosis* – UDN] – wybrane zagadnienia” spełnia wymogi przewidziane w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789 z późn. zm.) i w pełni uzasadnia ubieganie się mgr. Mateusza Cieplińskiego o stopień naukowy doktora. Przedstawiam zatem jej pozytywną ocenę i wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Zielonogórskiego o dopuszczenie Jej Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Dr hab. Bożena Witek, prof. UJK