



**UNIWERSYTET SZCZECIŃSKI**  
**WYDZIAŁ NAUK ŚCISŁYCH I PRZYRODNICZYCH**  
**Instytut Biologii**

Szczecin 4.09.2023

Dr hab. Katarzyna Dziewulska, prof. US  
Uniwersytet Szczeciński  
Instytut Biologii  
Katedra Hydrobiologii  
ul. Felczaka 3c  
71-412 Szczecin

**RECENZJA**

**rozprawy doktorskiej mgr Przemysława Kwiatkowskiego**  
**pt. „Wpływ pola magnetycznego na plemniki i efekty zapłodnienia u ryb”**  
wykonana w Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym w Szczecinie  
pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Krzysztofa Formickiego

**Ocena formalna pracy**

Rozprawa doktorska Pana mgr Przemysława Kwiatkowskiego pt.: „*Wpływ pola magnetycznego na plemniki i efekty zapłodnienia u ryb*” została przedstawiona na 221 stronach, w klasycznym układzie rozdziałów charakterystycznym dla opracowań naukowych. Spis treści zawiera 14 rozdziałów, kolejno: Wstęp (2,5 strony), Przegląd piśmiennictwa (13 stron), Cel pracy (1 strona), Materiał (1 strona), Metodyka (12 stron), Wyniki (144 strony), Dyskusja (14 stron), Wnioski (2 strony), Piśmiennictwo (11 stron), Słowa kluczowe, Streszczenie pracy (2 strony), Abstract (2 strony w języku angielskim), Spis rycin (6 stron zawierających tytuły 74 rycin), Spis tabel (7 stron zawierających tytuły 110 tabel). Spośród wszystkich rozdziałów trzy tj.: Przegląd piśmiennictwa, Metodyka i Wyniki są podzielone na podrozdziały.

Tematyka badawcza dysertacji wpisuje się w nurt badań dziedziny nauk rolniczych, w dyscyplinie rybactwo. Porusza ona zagadnienie związane ze zwiększeniem skuteczności krótkoterminowego przechowywania nasienia z tzw. możliwością reaktywacji ruchliwości plemników i poprawą parametrów ruchu plemników poprzez zastosowania czynnika zewnętrznego podczas jego przechowywania, którym w niniejszej pracy było stałe pole magnetyczne.

Badania wykonano na czterech gatunkach ryb: głowacicy *Hucho. hucho*, troci wędrownej *Salmo trutta*, siei *Coregonus lavaretus* i cercie *Vimba vimba*. Pobrane nasienie przechowywano przez następujące okresy czasowe: 30 min, 24 godziny, 48 h w przypadku troci wędrownej i siei. Badano wpływ natężenia pola magnetycznego o trzech wartościach: 0,5, 3 i 5 mT. Podstawową metodą badawczą była analiza ruchliwości plemników z wykorzystaniem komputerowo-wspomaganej analizy plemników (CASA). Bardzo dużą zaletą badań było wykonanie ostatniego etapu doświadczenia tj. przeprowadzenie zapłodnienia ikry inkubowanymi w różnych warunkach plemnikami (w tym próbą kontrolną) i wyznaczenie odsetka zapłodnionych



jaj i wylęgowości. Rozprawa wzbogacona jest o wykonanie pomiarów morfometrycznych plemników w mikroskopii skaningowej. Koncepcja pracy jest przemyślana, a zaprezentowane wyniki badań są obszerne i zredagowane dla odbiorcy w interesujący sposób. Wyniki badań oprócz omówienia opisowego, przedstawione są w formie wykresów (74) z naniesioną w formie symboli literowych interpretacją statystyczną, z załączonymi tabelami obliczeń testów istotności ANOVA i testu post-hoc Duncana. Dysertacja wpisuje się w wieloletnią, problematykę badawczą Katedry Hydrobiologii, Ichtiologii i Biotechnologii Rozrodu ZUT i wnosi nową wiedzę na temat wpływu pola magnetycznego na komórki i organizmy. W przypadku niniejszej pracy, zagadnienie dotyczy możliwości wykorzystania pola magnetycznego w wylęgarnictwie, w postaci możliwości zastosowania pola magnetycznego podczas przechowywania nasienia do poprawy jakości plemników i wydłużenia czasu krótkoterminowego przechowywania.

### **Szczegółowa ocena merytoryczna**

Sporządzony Spis treści jest przejrzysty i czytelny. W Spisie treści nie zostały ujęte numerowane podrozdziały tj.: 6.1.1.1, 6.1.1.2, 6.1.1.3, 6.1.1.4, 6.1.1.5, 6.1.1.6, 6.1.1.7, 6.1.1.1.8, 6.1.1.1.9 dla podrozdziału 6.1.1 „*Parametry ruchu plemników po 30 minutach i 24 godzinach ekspozycji nasienia w polu magnetycznym*” dotyczącego omówienia poszczególnych parametrów ruchu plemników głowacicy tj. MOT, VCL, VSL, VAP, LIN, STR, ALH, czasu ruchliwości plemników, odsetka plemników poruszających się ruchem rapid, medium i slow. Takie rozdziały analogicznie dotyczą analizy materiału badawczego każdego z czterech gatunków. Nie umieszczenie tych podrozdziałów w Spisie treści powoduje, że jest on bardziej czytelny i mieści się na 1,5 strony. Ewentualnie można by nie stosować numeracji tych podrozdziałach i pozostawić w Wynikach wytluszczone tytuły omawianych zagadnień. W Spisie treści znalazły się drobne błędy edytorskie. W tytule podrozdziału 6.2.1, 6.3.1, 6.4.1 zamieszczono na końcu odniesienie do rycin „(Ryc. 28-29):”, „(Ryc. 44-45):” i (Ryc. 60-61):”, które należy usunąć.

We Wstępie Doktorant wprowadza czytelników w podstawową wiedzę dotyczącą sposobów rozmnażania i produkcji gamet przez osobniki rodzicielskie jako podstawę rozmnażania płciowego. Wskazuje również na zróżnicowanie biologii plemników u ryb kostnoszkieletowych oraz wymienia czynniki zewnętrzne jakie mają wpływ na ruchliwość i żywotność plemników, w tym pole magnetyczne, które jest czynnikiem analizowanym w ocenianej dysertacji. Sprostowania wymaga zdanie ze strony 8: „Dwie centriole o tej samej wielkości (30  $\mu\text{m}$  długości i 22 nm średnicy) umieszczone są pod kątem prostym do podstawy główki.”

W drugim rozdziale zatytułowanym Przegląd piśmiennictwa Doktorant opisał charakterystykę budowy plemników i jej zróżnicowanie u różnych przedstawicieli ryb kostnoszkieletowych. Następnie przedstawił przekrojowo substraty wykorzystywane do syntezy związków energetycznych, czynniki wpływające na immobilizację plemników oraz czynniki aktywujące plemniki do ruchu, zasadę działania systemu komputerowo-wspomaganej analizy plemników, charakterystykę pola magnetycznego Ziemi i zakres występujących naturalnych natężeń pola, a także najważniejsze wyniki badań nad wpływem indukowanego pola magnetycznego o różnym natężeniu, na różne aspekty biologii ryb, w tym wpływ indukowanego pola magnetycznego na plemniki ryb. Sprostowania wymaga zdanie ze strony 11: „Stwierdzono, że najważniejszym czynnikiem hamującym indukcję ruchu plemników ryb w nasieniu jest obecność jonów potasu  $\text{K}^+$ ”.



W obu pierwszych rozdziałach odnotowałam drobne błędy interpunkcyjne tj.: brak kropki na końcu zdania czy brak nawiasu.

Kolejny rozdział Cel pracy definiuje zadania badawcze zaplanowane do realizacji. Założenie badawcze obejmowało zbadanie wpływu stałego pola magnetycznego o wartości 0,5, 3 i 5 mT na plemniki czterech gatunków ryb: głowacicy *Hucho hucho*, troci *Salmo trutta*, siei *Coregonus lavaretus* i certy *Vimba vimba*. Wszystkie wymienione gatunki są cenne dla naszej gospodarki. Wskazano cztery cele. Wpływ inkubacji plemników w polu magnetycznym na: 1) parametry ruchu plemników, 2) morfologię plemników, 3) skuteczność zapłodnienia inkubowanymi plemnikami, 4) wylęgowość larw. Doktorant zaznaczył, że badania na nasieniu głowacicy i troci były wcześniej prowadzone jednakże w niniejszej dysertacji aspekt badawczy został rozszerzony o podział i analizę plemników w obrębie trzech kategorii gamet: plemniki o ruchu bardzo szybkim, szybkim i wolnym. Autor wyjaśnił, że zastosowany podział pozwoli na bardziej szczegółową analizę pozwalającą ocenić oddziaływanie pola magnetycznego na plemniki o różnej kondycji. Autor w tym rozdziale przedstawił również hipotezy badawcze. Założył, że pole magnetyczne może wpłynąć na poprawę jakości plemników, co pozwoli na wydłużenie czasu przetrzymywania plemników bez obniżenia jego jakości. Ponadto pole magnetyczne może zwiększyć odsetek ruchliwych plemników i poprawić ich zdolności motoryczne, co przełoży się na wzrost procentu zapłodnionych jaj.

W Materiałach prawidłowo opisano miejsce i ilość pozyskanego do badań materiału w postaci plemników (od 6 osobników) i jaj (od 4 osobników) wymienionych powyżej gatunków. W przypadku trzech gatunków badania wykonywano kilkakrotnie zwiększając liczbę powtórzeń. Gamety głowacicy pozyskano od 6 i 4 osobników, odpowiednio, w Ośrodku Zarybieniowym i Wylęgarni Ryb Łososiowatych Polskiego Związku Wędkarskiego Okręg Nowy Sącz w Łopusznej. Gamety troci pobrano czterokrotnie, sumarycznie od 24 i 16 osobników, odpowiednio, w punkcie odłowy Polskiego Związku Wędkarskiego Okręg Szczecin, na Redze, w miejscowości Trzebiatów. Gamety siei wędrowniej pozyskano trzykrotnie, łącznie od 18 i 12 osobników, odpowiednio, w punkcie odłowy Polskiego Związku Wędkarskiego Okręg Szczecin, z rzeki Odra, w punkcie Dziewoklicz. Gamety certy pozyskano dwukrotnie, sumarycznie od 12 i 8 osobników, odpowiednio, od Polskiego Związku Wędkarskiego Okręg Szczecin po elektropołowach na rzece Redze. Ewentualnie, moim zdaniem ten rozdział można uzupełnić o dane dotyczące wieku i długości ryb, od których pozyskano gamety oraz informację, że prowadzenie badań na gametach i wylęgu do etapu karmienia nie wymaga zgody Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach.

W Metodach autor opisał warunki transportu materiału pobranego do badań. W tym podrozdziale brakuje podania informacji dotyczącej: czasu transportu, objętości nasienia znajdującego się w przechowywanej próbówce, dostępności powietrza, o mieszaniu nasienia, gdyż te parametry wpływają na warunki przeprowadzenia doświadczenia i przeżywalność plemników. Model doświadczalny został bardzo precyzyjnie omówiony i zobrazowany Ryciną nr 3. Badano wpływ stałego pola magnetycznego o wartości 0,5, 3 i 5 mT na plemniki ww. czterech gatunków ryb. Czas przechowywania, a tym samym czas ekspozycji na pole magnetyczne wynosił 30 min, 24 godziny, a w przypadku troci wędrowniej i siei również 48 h. W podrozdziale 5.4 omówiono analizę CASA. Aktywatorem była woda, podano jej podstawowe parametry i to że była natleniana przez 72 h, natomiast można by dodać pochodzenie wody. W metodzie analizy zastosowano podział plemników na trzy kategorie rapid (bardzo szybkie), medium (szybkie) i slow (wolne), co wpisuje się w obecny nowatorski nurt oceny plemników w grupach ruchowych i pozwala uzyskać dodatkowe informacje, szczególnie cenne w doświadczeniach badających wpływ



czynników zewnętrznych na plemniki. Jest to niewątpliwie dużą zaletą pracy, pozwalającą uzyskać nowe dane. Zasugerowałabym zmianę nazwy polskich odpowiedników nazw angielskich dwóch kategorii plemników: rapid określiłabym jako szybkie, a medium jako plemniki poruszające się z prędkością umiarkowaną. Sprostowania wymaga czas rozpoczęcia rejestracji ruchu plemników. W Metodach podany jest czas tj. trzy sekundy pomiędzy aktywacją, a rozpoczęciem pomiaru. Natomiast pod rycinami wskazany jest czas 2 s (Ryc. 44, 60) lub 5 s (Ryc. 13, 28) po aktywacji. Należy podkreślić, że Doktorant przeanalizował bardzo duży ilościowo materiał badawczy. W sumie przeanalizowano 7 parametrów (MOT, VCL, VSL, VAP, LIN, STR, ALH) w 4 grupach plemników: grupie całościowej, rapid, medium i slow (28 cech) ponadto czas trwania ruchu, zmiany odsetka kategorii plemników, wszystkie dane w czterech wariantach natężenia pola, kontrola, 0,5, 3, 5 mT i w dwóch lub trzech czasach ekspozycji. Dużą wartością pracy stanowi ostatni etap doświadczenia związany z wykonaniem zapłodnienia plemnikami poddawanymi ekspozycji na pole magnetyczne i oszacowanie odsetka zapłodnionych jaj oraz wylęgowości. Te ostatnie dane stanowią o wartości biologicznej gamet. W tylko pojedynczym modelu doświadczalnym po wykonaniu zapłodnienia, Doktorant miał pod nadzorem nawet 288 prób ikry w krystalizatorach, które trzeba było doglądać. Doświadczenia były czasami powtarzane czterokrotnie. Zwracam uwagę na bardzo duży wkład pracy Doktoranta w uzyskanie wiarygodnych wyników.

Pozostałe uwagi do Metodyki. Cel nr 2 „morfologia plemników ryb przy wykorzystaniu mikroskopu skaningowego (SEM)” zamieszczony jest pod celem nr 1, co wskazuje, że morfologia plemników była oceniana w grupie plemników z wariantów doświadczalnych poddanych ekspozycji pola. W pracy nie ma wyraźnie wskazania jaki materiał był poddany morfometrii w mikroskopie skaningowym - plemniki świeże czy doświadczalne. W pracy nie podano na podstawie jakiego kryterium (etap rozwoju) przyjęto ocenę skuteczności zapłodnienia. W analizie statystycznej nie podano poziomu istotności, prawdopodobnie było to standardowo  $p = 0,05$ , jak wynika to z koloru czerwonego oznakowania wartości „p” testów Duncana w tabelach zamieszczonych w rozdziale Wyniki. W tym rozdziale Rycina 1 na str. 28 powinna posiadać nr 8.

Wyniki badań zostały precyzyjnie, jasno i właściwej kolejności opisane w podrozdziałach. Do każdej analizy zamieszczono wykres z oznaczeniem literowym istotności różnic i tabelą zawierającą wartość „p” testu Duncana. Na kilku wykresach przedstawiających wartości parametrów CASA oznakowania literowe istotności różnic wymagają nieznacznej korekty (Ryc. 16b, 17b, 33b, 34a, 37a). Proponowałabym przy przygotowywaniu pracy do druku oznaczyć na wykresach dane z dwuczynnikowej ANOVA, które są w tabelach. Morfologia plemników zawiera oprócz fotografii i opisu również tabelaryczne przedstawienie wyników, za wyjątkiem certy i siei. W pracy mogłyby się znaleźć te dwie dodatkowe tabele, aby ujednolicić formę prezentacji wyników.

Dyskusja została przeprowadzona prawidłowo. W Dyskusji wskazano stwierdzenie korelacji pomiędzy prędkością krzywoliniową plemników, a procentem zapłonionych jaj. Natomiast w rozdziale Wyniki takich danych nie przedstawiono, ten aspekt wymaga uzupełnienia w rozdziale Wyniki.

Wnioski. Doktorant zamieścił 11 wniosków, w których jasno zostały sformułowane najważniejsze osiągnięcia dysertacji. We wniosku nr 4 należałoby skorygować wskazane gatunki i wartości pola. Wniosek nr 11, dotyczący korelacji, który nie ma poparcia w rozdziale Wyniki, zagadnienie to powinno być opisane w tym rozdziale.

Piśmiennictwo. Zawiera 179 pozycji literaturowych, głównie anglojęzycznych. Dobór literatury uważam za właściwy i dobrany do celów, stosowanych metod i uzyskanych wyników oraz ich dyskusji. W wykazie piśmiennictwa brak jednolitości prezentacji nazw czasopism (stosowane są skróty i pełne nazwy czasopism). W cytowaniu rozdziału z książki brakuje nazwisk redaktorów książki.

Streszczenie i Abstrakt. Streszczenie w języku polskim jak i angielskim jest dobrze zredagowane i w sposób całościowy przedstawia części składowe dysertacji.

Spis tabel i Spis rycin. Wykaz tabel i rycin zaprezentowany jest w sposób czytelny i przejrzysty wraz z podaniem strony lokalizacji w dysertacji.

### **Ocena końcowa pracy**

Praca Pana mgr Przemysława Kwiatkowskiego pt.: *„Wpływ pola magnetycznego na plemniki i efekty zapłodnienia u ryb”* jest dobrze napisana, a jej ciężar merytoryczny jest właściwy dla pracy doktorskiej. Nieliczne uwagi do pracy przedstawione przeze mnie, nie rzutują na jej wartość merytoryczną i ogólną ocenę pracy. Dysertacja stanowi nowy wkład wiedzy w bardzo aktualny temat jakim jest rozwój metod związanych ze wspomaganym rozrodem i produkcją materiału zarybieniowego, pozwalającym podtrzymywać liczebność populacji czy wręcz utrzymywać gatunki w środowisku dla przyszłych pokoleń. Aspekt aplikacyjny pracy w szeroko rozumianym pojęciu dyscypliny rybactwo nie budzi wątpliwości.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana mgr Przemysława Kwiatkowskiego spełnia wszystkie warunki określone w Ustawie 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). Przedłożona przez Doktoranta dysertacja stanowi istotny wkład w rozwój nauk rolniczych, w dyscyplinie rybactwo. W związku z tym zwracam się do Rady Dyscypliny Zootechniki i Rybactwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie Pana mgr Przemysława Kwiatkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto ze względu na szeroki zakres badań, jakość wyników i sposób ich interpretacji wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Zootechniki i Rybactwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o wyróżnienie dysertacji Pana mgr Przemysława Kwiatkowskiego.

KATEDRA HYDROBIOLOGII  
dr hab. Katarzyna Dziewulska prof. US

dr hab. Katarzyna Dziewulska, prof. US