

Olsztyn, 21.12.2021 r.

Prof. dr hab. inż. Dorota Fopp-Bayat  
Katedra Ichtiologii i Akwakultury  
Wydział Bioinżynierii Zwierząt  
UWM w Olsztynie  
Ul. Oczapowskiego 5  
10-719 Olsztyn

## **RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ PANA mgr MARCINA POLONISA**

**pt.: „Wpływ wybranych czynników fizycznych i biologicznych na skuteczność gynogenezy i androgenezy pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*)”**

*Tytuł Rozprawy doktorskiej w języku angielskim:*

**„Impact of selected physical and biological factors on efficiency of gynogenesis and androgenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”**

Recenzja została wykonana na zlecenie Pana Prof. dr hab. Wojciecha Tylmanna, Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Nauki o Ziemi i Środowisku Uniwersytetu Gdańskiego.

### **I. Ocena formalna rozprawy doktorskiej**

Pan mgr Marcin Polonis przygotował rozprawę doktorską dotyczącą analizy wpływu czynników fizycznych i biologicznych na skuteczność gynogenezy i androgenezy pstrąga tęczowego. Swoją pracę doktorską realizował pod opieką naukową Pana dr hab. inż. Konrada Ocalewicza, prof. UG – wybitnego specjalisty z zakresu zastosowania metod inżynierii genomowej u ryb łososiowatych.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi cykl czterech, opublikowanych, oryginalnych publikacji naukowych, tematycznie związanych ze sobą. Publikacje naukowe, stanowiące rozprawę doktorską zostały wydane w latach 2018-2021. Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopismach z listy MEiN (sumaryczna liczba punktów MEiN, zgodnie z rokiem wydania, wynosi 310; IF=6,93). Należy podkreślić, iż prace te zostały opublikowane w renomowanych czasopismach, na przykład: Journal of Applied Genetics IF=1,72, Reproduction in Domestic Animals

IF=1,64, Animals IF=2,75. W trzech publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem, natomiast w jednej zajmuje trzecią pozycję współautorską. Wkład indywidualny autora w powstanie wymienionych publikacji naukowych (biorąc pod uwagę również realizację prac badawczych) wynosi od 25 do 40%.

Recenzowana rozprawa doktorska obejmuje 89 stron w jednym tomie; składa się z następujących części:

- Streszczenia (w języku polskim i angielskim),
- Wykazu publikacji stanowiących pracę doktorską (wraz z Oświadczeniami Współautorów)
- Spisu literatury

Cykl publikacji naukowych, stanowiący rozprawę doktorską Pana mgr Marcina Polonisa pod tytułem: „**Wpływ wybranych czynników fizycznych i biologicznych na skuteczność gynogenezy i androgenezy pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*)**” został syntetycznie scharakteryzowany w streszczeniu (złożonym z 8 stron w języku angielskim i 9 stron w języku polskim), w skład którego wchodzi dwa rozdziały zatytułowane: i) Wstęp, ii) Cel naukowy badań oraz podsumowanie wyników. Na końcu rozprawy doktorskiej zamieszczono Spis literatury złożony z 29 pozycji literaturowych anglojęzycznych.

Prezentowana rozprawa doktorska pod względem formalnym jest poprawna. Publikacje zamieszczone w Spisie literatury zostały dobrane odpowiednio i stanowią materiał źródłowy, ściśle związany z obszarem badawczym prezentowanym w Pracy doktorskiej.

## **II Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej**

Tematyka pracy doktorskiej obejmuje zagadnienia z zakresu zastosowania metod inżynierii genomowej w akwakulturze. Doktorant w trakcie realizacji badań naukowych uzyskał androgenetyczne i gynogenetyczne osobniki pstrąga tęczowego oraz badał wpływ wybranych czynników na skuteczność prowadzonych manipulacji genomowych.

Głównym celem badań było oszacowanie wpływu wybranych czynników fizycznych i biologicznych na skuteczność gynogenezy i androgenezy pstrąga tęczowego *Oncorhynchus mykiss*, natomiast cele szczegółowe dotyczyły czterech zadań/etapów badawczych:

- 1) uzyskania gynogenetycznych pstrągów tęczowych z wykorzystaniem aktywacji jaj inaktywowanym promieniami UV nasieniem troci wędrownej *Salmo trutta*,
- 2) analizy rozmieszczenia kropli tłuszczowych w cytoplazmie ziaren ikry eksponowanych na działanie promieniowania jonizującego w trakcie indukowanej androgenezy oraz oceny ich potencjału rozwojowego,
- 3) identyfikacji genów kandydackich wpływających na skuteczność procesu indukowanej gynogenezy,
- 4) oceny aktywności enzymów antyoksydacyjnych w jajach naświetlanych promieniowaniem jonizującym podczas androgenezy.

Szczegółowe cele pracy ujęte przez Autora w postaci czterech zadań badawczych sformułowane są prawidłowo, choć pewien niedosyt na tym etapie budzi brak ogólnego założenia jakim jest hipoteza badawcza.

Osiągnięcie zamierzonych celów zostało zwieńczone opublikowaniem czterech publikacji naukowych, w których zawarto wyniki badań, dotyczące czterech etapów badawczych.

We wprowadzeniu Pan mgr Marcin Polonis nakreśla tło obszaru badawczego, który stanowił podstawę jego doktoratu. Opisuje zastosowania nowoczesnych technik biotechnologicznych w akwakulturze. Wprowadza czytelnika w zagadnienia związane z indukcją gynogenezy i androgenezy u ryb. Doktorant wyjaśnia jakie czynniki mają wpływ na skuteczność stosowanych manipulacji genomowych oraz opisuje rolę matczynego mRNA na wczesnych etapach rozwoju embrionalnego. Podkreśla, że badania matczynego transkryptomu z wykorzystaniem metody sekwencjonowania nowej generacji ujawniają znaczące różnice w ekspresji kilkudziesięciu genów w jajach pochodzących od różnych samic pstrąga tęczowego. Doktorant stwierdza, że gamety pochodzące od różnych samic mogą różnić się profilem transkryptomicznym i mogą charakteryzować się różnym potencjałem rozwojowym po gynogenetycznej aktywacji. W tej części streszczenia Doktorant opisuje czynniki, które wpływają niekorzystnie na rozwój embrionalny zarodków poddanych manipulacjom genomowym, wskazując wpływ czynników genetycznych i środowiskowych oraz stosowanych udarów i napromieniowania.

W dalszej części streszczenia, czytelnik zostaje wprowadzony w syntetyczną charakterystykę wyników zawartych w czterech publikacjach doktorskich.

W badaniach, realizowanych w trakcie pracy doktorskiej można wyróżnić cztery podstawowe etapy, które są ściśle związane z wcześniej wymienionymi czterema celami szczegółowymi. Na szczególną uwagę zasługuje zarówno część eksperymentalna jak i również laboratoryjno-analityczna. Część eksperymentalna została bardzo dobrze opisana w publikacjach naukowych i dotyczyła przeprowadzenia androgenezy oraz gynogenezy u pstrąga tęczowego. Wszystkie prace eksperymentalne były realizowane z Zakładzie Doświadczalnym Ryb Łososiowatych w Rutkach Instytutu Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie (IRS), gdzie znajdują się stada mateczne badanego gatunku. Część analityczna była realizowana w Laboratorium genetycznym Instytutu Oceanografii Uniwersytetu Gdańskiego, gdzie Pan mgr Marcin Polonis samodzielnie prowadził swoje badania.

W prezentowanym streszczeniu, opisującym cykl publikacji, Doktorant nie uwzględnił metodyki badawczej, co nie jest błędem, ponieważ metodyka badawcza została dokładnie opisana w publikacjach, stanowiących dysertację doktorską. Uznaję, że brak metodyki jest związany z formą przygotowania rozprawy doktorskiej, obowiązującą w jednostce, w której Doktorant realizował rozprawę doktorską. Metodyka badawcza zastosowana w trakcie realizacji pracy doktorskiej, opisana w publikacjach naukowych, jest bardzo zaawansowana i świadczy o dobrej znajomości zagadnień oraz wysokich umiejętnościach analitycznych Doktoranta.

#### **Charakterystyka etapów badawczych:**

- I. W pierwszym etapie badawczym Doktorant prowadził prace eksperymentalne w celu uzyskania gynogenetycznych pstrągów tęczowych. W swoich badaniach aktywował oocyty pstrąga tęczowego inaktywowanym promieniami UV nasieniem troci wędrownej oraz stosował udar ciśnieniowy w celu odtworzenia diploidalnego stanu komórki. Wyniki tych analiz zostały opisane w pierwszej publikacji.
- II. Drugi etap badawczy dotyczył analizy rozmieszczenia kropli tłuszczowych w cytoplazmie ziaren ikry, eksponowanych na działanie promieniowania jonizującego, w trakcie indukowanej androgenezy oraz oceny ich potencjału rozwojowego. Wyniki powyższych badań zostały opublikowane w drugiej publikacji.

- III. W III etapie badawczym, mgr Marcin Polonis prowadził analizy związane z identyfikacją genów kandydackich wpływających na skuteczność procesu indukowanej gynogenezy. W trakcie tych badań Doktorant badał profile transkryptomyczne oocytów pochodzących od różnych samic pstrąga tęczowego. Na podstawie uzyskanych wyników analiz stwierdził, że gamety pochodzące od różnych samic różnią się profilem transkryptomycznym i mogą charakteryzować się różnym potencjałem rozwojowym po indukcji gynogenezy. Badania te zostały dokładnie opisane w trzeciej publikacji naukowej
- IV. Ostatnia część pracy doktorskiej dotyczyła oceny aktywności enzymów antyoksydacyjnych w jajach naświetlanych promieniowaniem jonizującym podczas androgenozy. Doktorant badał jaja pochodzące od różnych samic pstrąga tęczowego, w których zidentyfikował różnice w aktywności enzymów antyoksydacyjnych, które były sprzężone z potencjałem rozwojowym zarodków. Wyniki powyższych badań zostały opublikowane w czwartej publikacji.

Chociaż Doktorant zawarł w streszczeniu rozprawy doktorskiej rozdział Cel naukowy badań oraz podsumowanie wyników, to jednak zabrakło mi wniosków końcowych, które powinny zwieńczyć tę rozprawę doktorską.

Wymienione drobne uwagi mają charakter edytorski i nie wpływają na wysoką ocenę Rozprawy doktorskiej.

Nie poddaję ocenie publikacji naukowych stanowiących Rozprawę doktorską, ponieważ zostały one poddane recenzji i przeszły pełen cykl edytorski.

Podsumowując, Pan mgr Marcin Polonis w swojej rozprawie doktorskiej przeprowadził szereg eksperymentów dotyczących zastosowania gynogenezy i androgenozy u pstrąga tęczowego. Przeprowadził cykl analiz cytogenetycznych i molekularnych, które umożliwiły weryfikację zastosowanych manipulacji genomowych. Badał również rozmieszczenie kropli tłuszczu w jajach inaktywowanych promieniowaniem jonizującym. Dodatkowo analizował rozwój embrionów i larw, które uzyskał w wyniku prac eksperymentalnych z wykorzystaniem metod inżynierii genomowej. Analiza morfologiczna larw wyprodukowanych w trakcie eksperymentów wykazała występowanie licznych deformacji, które zostały dobrze scharakteryzowane przez Doktoranta w czwartej publikacji. W ramach zaplanowanych prac eksperymentalnych i analitycznych Doktorant określił wpływ wybranych czynników fizycznych

i biologicznych na skuteczność gynogenezy i androgenezy pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*).

Biorąc pod uwagę zakres tematyczny oraz zastosowane metody analityczne, stwierdzam, że Pan mgr Marcin Polonis wykazał się umiejętnością samodzielnego prowadzenia prac badawczych, w wyniku których uzyskał bardzo ciekawe i ważne wyniki. Wnikliwe i staranne opracowanie wyników prac eksperymentalnych i analitycznych umożliwiło przygotowanie publikacji naukowych, które zostały opublikowane w prestiżowych periodykach naukowych.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż wyniki badań są istotne zarówno z punktu widzenia poznawczego jaki i aplikacyjnego.

Reasumując, przedłożona do oceny rozprawa doktorska zawiera nowe wyniki badań, prezentuje bardzo wysoki poziom naukowy i stanowi oryginalny wkład w badania z zakresu biotechnologii rozrodu ryb łososiowatych z zastosowaniem inżynierii genomowej.

### **Wniosek końcowy**

Biorąc pod uwagę fakt, że przedstawiona rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie ważnego problemu naukowego, pokazuje szeroką teoretyczną wiedzę Doktoranta i udowadnia umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej stwierdzam, że praca Pana mgr Marcina Polonisa pt.: **Wpływ wybranych czynników fizycznych i biologicznych na skuteczność gynogenezy i androgenezy pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*)** spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim oraz warunki określone w art. 13 ust 1 *Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). W związku z powyższym, zwracam się więc do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki o Ziemi i Środowisku Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Pana mgr Marcina Polonisa do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, z uwagi na zastosowanie bardzo zaawansowanych technik eksperymentalnych i analitycznych w niniejszej pracy doktorskiej oraz uzyskanie istotnych wyników naukowych, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr Marcina Polonisa.

*Dariusz Fojcik - Bayda*