

Prof. dr hab. inż. Alicja Boroń
Katedra Zoologii, Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
a-mail: alibo@uwm.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Ligii Panasiak wykonanej w Katedrze Biologii Morza i Biotechnologii, Wydziału Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego

Podstawą ubiegania się Pani mgr Ligii Panasiak w postępowaniu o nadanie stopnia doktora jest rozprawa doktorska pod tytułem: „***Changes in the length of telomeric DNA and telomerase activity in diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)***” (Zmiany długości telomerowego DNA i aktywności telomerazy u diploidalnych i triploidalnych pstrągów tęczowych (*Oncorhynchus mykiss*), której promotorem jest Pan dr hab. inż. Konrad Ocalewicz, prof. UG. Rozprawa powstała w oparciu o składające się na nią publikacje:

1. Panasiak, L., Dobosz, S., i Ocalewicz, K. (2020). Telomere dynamics in the diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) assessed by Q-FISH analysis. *Genes*, 11(7), 786. <https://doi.org/10.3390/genes11070786>.
2. Panasiak, L., Szubert, K., Polonis, M., i Ocalewicz, K. (2022). Telomere length variation does not correspond with the growth disturbances in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Genetics*, 63, 133-139. doi:10.1007/s13353-021-00669-6.
3. Panasiak, L., Kuciński, M., Błaszczuk, A., i Ocalewicz, K. (2022). Telomerase activity in androgenetic rainbow trout with growth deficiency and in normally developed individuals. *Zebrafish*, 19(4), 131-136. <https://doi.org/10.1089/zeb.2022.0012>.
4. Panasiak, L., Kuciński, M., Hliwa, P., Pomianowski, K. i Ocalewicz, K. (2023). Telomerase activity in somatic tissues and ovaries of diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) females. *Cells*, 2446865.

Rozprawa doktorska dotyczy zmian długości telomerowego DNA oraz aktywności enzymu telomerazy i ekspresji genu *Tert* w wybranych tkankach somatycznych i w gonadach diploidalnych i triploidalnych osobników pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) będących na różnym etapie ontogenezy, charakteryzujących się różnym tempem wzrostu oraz zróżnicowaniem genetycznym. Podjęta, ważna problematyka badawcza ocenianej rozprawy doktorskiej wpisuje się znakomicie w nurt światowych badań dotyczących procesów mających wpływ na starzenie się organizmów, w tym poliploidów, w kontekście czynników determinujących długość telomerów. Będące obiektem badań ryby, w komórkach somatycznych których telomeraza jest aktywna przez cały okres rozwoju osobniczego są dobrym modelem takich badań. Co więcej, obiektem prowadzonych badań są uzyskane w procesach hodowlanych osobniki pstrąga tęczowego różniące się morfologicznie i genetycznie.

Odnosząc się do struktury rozprawy doktorskiej to zawarta została na 106 stronach i napisana w dwóch językach, angielskim i następnie polskim, co jest zgodne z obowiązującymi w tym zakresie wymaganiami. Za stroną tytułową znajdujemy ważną informację o finansowaniu prowadzonych przez Doktorantkę badań naukowych w ramach projektu NCN, którego kierownikiem był Promotor pracy. Następnie jest Spis treści, Lista publikacji składających się na rozprawę doktorską, Abstrakt, Wstęp, Cele pracy, Hipotezy badawcze i Zadania badawcze podjęte celem ich weryfikacji. W treści rozprawy Doktorantka zawarła opis badań, w tym zastosowanych

metod, oraz uzyskanych wyników służących do weryfikacji kolejno każdej z trzech przyjętych hipotez badawczych, spis zastosowanych metod badawczych, podsumowanie oraz wnioski. Część w j. polskim rozpoczyna streszczenie pracy, po którym następują powyżej wymienione rozdziały. Umieszczona dalej bibliografia liczy 100 pozycji dobrze dobranych, w zdecydowanej większości opublikowanych w ostatnich kilkunastu latach, w tym także najnowszych z zakresu obranej problematyki badawczej. Następnie rozprawa zawiera kopie czterech oryginalnych, współautorskich prac naukowych, opublikowanych w latach 2020 – 2023, w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Na końcu rozprawy znajdują się kopie deklaracji współautorów publikacji o udziale w ich powstaniu. Lektura tych deklaracji jednoznacznie wskazuje, że choć prace są współautorskie (od trzech do pięciu osób), to Doktorantka uczestniczyła w badaniach na każdym ich etapie; w uzyskaniu i opracowaniu wyników oraz w powstaniu przedmiotowych publikacji.

Przechodząc do oceny treści rozprawy doktorskiej... W rozdziale Wstęp, Autorka krótko omówiła budowę oraz istotne funkcje telomerów, a także czynniki i procesy mające wpływ na skracanie się ich długości w komórkach zwierząt i człowieka. Charakteryzując dotychczasowe badania dotyczące telomerów ryb wskazała na między- i niekiedy wewnątrz gatunkowe, np. związane w płcią, różnice w długości i tempie skracania się telomerów u różnych gatunków. Omówiła budowę i funkcje telomerazy, enzymu, który jest odpowiedzialny za syntezę sekwencji telomerowego DNA; spowalniając lub zapobiegając skracaniu się telomerów, odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu integralności telomerów, podczas regeneracji uszkodzonych tkanek, w procesie nowotworzenia, ochronie antyoksydacyjnej czy też mechanizmie starzenia się organizmu. Interesująco przedstawiła wyniki badań modelowych gatunków ryb wskazujące na wysoką korelację pomiędzy ekspresją genu *Tert* i aktywnością telomerazy, co sugeruje, że regulacja transkrypcji tego genu jest jednym z podstawowych mechanizmów regulujących aktywność enzymu.

Przechodząc do obiektu swoich badań, Pani mgr Ligia Panasiak opisała przypadki spontanicznej i indukowanej triploidyzacji u ryb. Triploidy pstrąga tęczowego uzyskano w warunkach kontrolowanych w efekcie działania stresu ciśnieniowego na zapłodnione jaja, co Doktorantka wyczerpująco zilustrowała na Rysunku 1. Na podkreślenie zasługuje, że Doktorantka bardzo dobrze uzasadniła wybór obiektu badań - dodatkowy zestaw chromosomów u triploidalnych ryb powoduje poważne zakłócenia w procesie rozwoju gonad i produkcji gamet oraz niekiedy w funkcjonowaniu takich osobników, cyt.: „Ryby triploidalne ze względu na swoje charakterystyczne cechy takie jak większy rozmiar komórek, zwiększona heterozygotyczność (dodatkowe kopie genów), sterylność, ciągły wzrost czy też większa podatność na czynniki zewnętrzne w porównaniu do diploidalnych osobników, są dobrym modelem do badań długości telomerów oraz aktywności telomerazy.” Regulacja ekspresji genów u triploidów ryb jest obiektem wielu badań i na tym tle bardzo istotna jest podjęta przez Doktorantkę analiza ekspresji genu *Tert* - kluczowa dla utrzymania homeostazy tkanek ryb. **W mojej opinii wstęp do rozprawy doktorskiej dobrze uzasadnia podjętą tematykę badawczą oraz wybór obiektów badań, a także dobór adekwatnych metod.**

Doktorantka wyznaczyła następujące cele pracy, cyt.: „1. Charakterystyka zmian długości telomerowego DNA w trakcie rozwoju osobniczego w komórkach diploidalnych i triploidalnych pstrągów tęczowych. 2. Określenie długości telomerowego DNA i aktywności telomerazy u pstrągów tęczowych charakteryzujących się niedoborem wzrostu. 3. Określenie aktywności

telomerazy w tkankach somatycznych i w jajnikach u diploidalnych i triploidalnych pstrągów tęczowych.” Przyjęta, w mojej opinii prawidłowo sformułowane hipotezy badawcze, cyt.: „1. Długość telomerowego DNA u diploidalnych i triploidalnych pstrągów tęczowych zmienia się wraz z wiekiem w różnym tempie, zależnie od ploidalności. 2. Pstrągi tęczowe charakteryzujące się zaburzeniem wzrostu posiadają krótsze telomery oraz niższą aktywność telomerazy w swoich komórkach niż prawidłowo rozwinięte osobniki. 3. Aktywność telomerazy w niedorozwiniętych jajnikach triploidalnych pstrągów tęczowych jest niższa, niż w jajnikach osobników diploidalnych, natomiast aktywność telomerazy w organach somatycznych triploidalnych pstrągów tęczowych jest wyższa niż u diploidalnych osobników.”

Celem weryfikacji postawionych hipotez zaplanowała następujące zadania badawcze, cyt.: „Zadanie 1. Oszacowanie zmian długości telomerowego DNA w komórkach diploidalnych i triploidalnych pstrągów tęczowych w różnym wieku. Zadanie 2. Analiza długości telomerowego DNA oraz aktywności telomerazy u karłowatych i prawidłowo rozwijających się diploidalnych pstrągów tęczowych. Zadanie 3. Ocena aktywności ekspresji genu *Tert* w wątrobie, śledzionie, mięśniach, skrzelach i jajnikach diploidalnych i triploidalnych pstrągów tęczowych.”

Każdy z trzech podrozdziałów ocenianej rozprawy doktorskiej zawiera odniesienie do weryfikacji jednej z przyjętych hipotez. Opis każdego zagadnienia badawczego rozpoczyna krótki wstęp, następnie charakterystyka materiałów i wykorzystanych metod, uzyskane najważniejsze wyniki oraz ich rzeczowa dyskusja z danymi innych autorów. Poszczególne opisy, z konieczności skrócone wobec znajdujących się w publikacjach, bardzo dobrze charakteryzują wykonane badania. Doktorantka umiejętnie wskazała na znaczenie uzyskanych wyników w uzupełnieniu wiedzy o długości telomerów, aktywności telomerazy i ekspresji genu *Tert* u ryb diploidalnych i triploidalnych na przykładzie pstrąga tęczowego. Za świadczące o dojrzałości naukowej Pani mgr Ligii Panasiak uważam to, że wyniki, ich podsumowanie i wnioski odniosła do pstrąga tęczowego, co wynika z przeprowadzonej starannej analizy danych literaturowych o zmienności badanych cech u różnych gatunków ryb. Bardzo dobrze oceniam uzyskane wyniki badań oraz także klarowny sposób ich zaprezentowania w podziale na charakterystykę badań i wyników służących kolejno weryfikacji przyjętych hipotez badawczych. Warto podkreślić, że Doktorantka przedyskutowała krótko uzyskane wyniki z danymi literaturowymi oraz sformułowała prawidłowe w mojej ocenie wnioski. *Tutaj mam drobną wątpliwość czy słowo „proces” zawarte we wniosku 1., cyt.: „Proces triploidyacji nie wpłynął znacząco na dynamikę zmian długości telomerowego DNA w trakcie rozwoju osobniczego pstrągów tęczowych.” jest uzasadnione, czy na pewno proces triploidyacji był tutaj analizowany(?)*.

Przedmiotową rozprawę doktorską postrzegam jako prawidłowe solidne opracowanie o przemyślanym układzie i klarownej treści. Znajdujące się tutaj odniesienia do oryginalnych prac twórczych opublikowanych przez Doktorantkę, skrótowo, ale całościowo charakteryzują te prace i najważniejsze osiągnięcia badawcze. Mocną stroną badań ocenianej rozprawy doktorskiej jest wybrany obiekt badań – osobniki pstrąga tęczowego z wybranych linii hodowlanych, z diploidalnych i triploidalnych stad ze szczepu Rutki, hodowanego w Zakładzie Badań Ryb Łososiowatych, Instytutu Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie, w Rutkach, obiekty środowiska, przyrody będącej efektem działalności hodowców i naukowców, dający możliwość wyboru osobników o różnej ploidalności, na różnym etapie ontogenezy, będących efektem rozrodu płciowego i androgenetycznego.

Przechodząc do oceny prac opublikowanych, składających się na przedmiotową rozprawę doktorską, omówię je w kolejności przedstawionej przez Doktorantkę.

1. Panasiak, L., Dobosz, S., i Ocalewicz, K. (2020). Telomere dynamics in the diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) assessed by Q-FISH analysis. *Genes*, 11(7), 786. <https://doi.org/10.3390/genes11070786>.

Celem badań opisanych w tej publikacji było określenie jak zmienia się długość telomerów w komórkach pstrąga tęczowego o różnej ploidi w rozwoju osobniczym. Do badań posłużyło osiem zarodków w 16 dniu po zapłodnieniu (dpf), osiem larw (28 dpf), pięć osobników młodych - jednorocznych, sześć dwuletnich i pięć dorosłych trzyletnich samic wybranych losowo. Triploidy uzyskiwano standardową metodą przy zastosowaniu stresu ciśnienia hydrostatycznego do komórek jajowych po inseminacji. Do określenia długości telomerów wykorzystano metodę ilościowej fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (Q-FISH, ang. *Quantitative Fluorescence In Situ Hybridization*). Za pomocą kamery pobierano obraz mikroskopowy jąder interfazowych po hybrydyzacji i analizowano intensywność sygnałów fluorescencyjnych posługując się odpowiednim oprogramowaniem.

Wykazano, że ryby diploidalne i triploidalne w trakcie ontogenezy charakteryzują się podobną dynamiką zmian długości telomerowego DNA. Znacząco krótszymi telomerami charakteryzowały się osobniki dwuletnie, podczas gdy trzyletnie miały dłuższe telomery, co może być związane z obserwowanym u nich spowolnieniem tempa wzrostu. Doktorantka wraz ze współpracownikami udokumentowała, że wraz ze wzrostem masy oraz długości ciała osobników triploidalnych istotnie spada długość telomerowego DNA w ich komórkach. Okazało się, że telomery skracają się i wydłużają w trakcie życia w zależności od tempa wzrostu. W komórkach osobników triploidalnych wskazano na zależność większa masa/długość ciała – krótsze telomery. W mojej opinii, uzyskano wyniki o sporej wartości naukowej; pozytywnie zweryfikowano pierwszą część hipotezy - u diploidalnych oraz triploidalnych pstrągów tęczowych długość telomerowego DNA zmienia się w rozwoju osobniczym, ale dynamika tych zmian okazała się nie być zależna od ploidi komórek.

W dwóch kolejnych publikacjach (numer 2 i 3):

2. Panasiak, L., Szubert, K., Polonis, M., i Ocalewicz, K. (2022). Telomere length variation does not correspond with the growth disturbances in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Genetics*, 63, 133-139. doi:10.1007/s13353-021-00669-6.
3. Panasiak, L., Kuciński, M., Błaszczuk, A., i Ocalewicz, K. (2022). Telomerase activity in androgenetic rainbow trout with growth deficiency and in normally developed individuals. *Zebrafish*, 19(4), 131-136. <https://doi.org/10.1089/zeb.2022.0012>,

Doktorantka zamieściła wyniki badań, w których porównała długość telomerowego DNA oraz aktywność telomerazy w komórkach osobników z niedoborem wzrostu (karłowatych) i charakteryzujących się prawidłowym wzrostem. Metodą Q-FISH analizowano długość telomerów u siedmiu osobników pstrąga tęczowego o normalnym oraz karłowatym wyglądzie, będących rodzeństwem pochodzącym z androgenetycznej, w pełni homozygotycznej podwójnej haploidalnej (DH) linii oraz prawidłowo rozwiniętych heterozygotycznych osobników pochodzących z linii Rutki. W publikacji nr. 3 zamieszczono bardzo informatywny schemat indukowanej androgenety u pstrąga tęczowego (Fig. 1). W celu oszacowania długości telomerowego DNA porównano intensywność fluorescencji sygnałów hybrydyzacji w komórkach

pstrąga tęczowego i w mysich komórkach chłoniaka z linii L5178Y-R o znanej długości telomerów (79 700 par zasad). Komórki somatyczne badanych osobników niezależnie od płci miały średnią długość telomerów od 17 do 20 kb. Osobniki karłowate o znacznie mniejszej długości i masie ciała niż ich normalnie rozwinięte rodzeństwo, w dodatku obarczone deformacjami (m.in. kręgosłupa), charakteryzowały się podobną długością telomerów. Tym samym wykazano, że morfologiczne i fizjologiczne różnice u ryb związane z różnym tempem wzrostu nie wpływają na dynamikę zmian telomerowego DNA. Autorzy pracy zasugerowali, że ewentualne zmiany długości telomerów mogą być wyrównywane aktywnością telomerazy, która u pstrąga tęczowego ma miejsce we wszystkich tkankach, niezależnie od etapu rozwoju ontogenetycznego. *Uzyskane wyniki wydają się bardzo interesujące; proszę Doktorantkę aby podczas obrony pracy doktorskiej krótko je przedyskutowała, proszę o opinię czy proces indukowanej androgenyzy może mieć wpływ na długość telomerów/aktywność telomerazy powstałych osobników.* Jednocześnie podkreśliłam, że udział tych osobników w badaniach uważam za bardzo cenny. Przy tej okazji warto wspomnieć, że Promotor pracy Pan dr hab. inż. Konrad Ocalewicz, prof. UG jest uznanym i mającym znaczne sukcesy badaczem, genetykiem, ekspertem m.in. indukowanego rozrodu ryb łososiowatych, w tym także androgenyzy.

W mojej opinii, poza wymienionymi powyżej, interesującym aspektem badań ocenianej pracy jest także wykazana duża zmienność długości telomerów pomiędzy osobnikami, dobrze i wyczerpująco przedyskutowana przez Autorów, na którą wpływ może mieć interakcja między czynnikami genetycznymi i dominującymi czynnikami środowiskowymi, takimi jak stres oksydacyjny, lub stres fizjologiczny. Wykazana zmienność może być też związana z tkanką, nerką głowową – narządem krwiotwórczym u ryb, z której wykonano preparaty komórek interfazowych, a która zawiera różne typy komórek w różnych stadiach dojrzałości.

Aktywność telomerazy badano w komórkach wątroby, w mięśniach i skórze u pięciu osobników: androgenetycznych pstrąga tęczowego z niedoborem wzrostu i ich normalnie rozwiniętego rodzeństwa i pięciu heterozygotycznych osobników z grupy kontrolnej, posługując się immunoenzymatycznym testem ELISA przeznaczonym do wysoce czułego jej wykrywania w próbkach biologicznych (praca nr 3). Osobniki karłowate o znacznie mniejszych rozmiarach i masie ciała, nie wykazywały żadnych istotnych różnic w aktywności telomerazy mierzonej w wątrobie i mięśniach w porównaniu z tymi normalnej wielkości. Z kolei, aktywność telomerazy w skórze była znacznie podwyższona u normalnie rozwiniętych osobników androgenetycznych w porównaniu do osobników karłowatych i heterozygotycznych. Doktorantka wykazała, że karłowatość u androgenetycznego pstrąga tęczowego nie jest regulowana w dół, przynajmniej w mięśniach i wątrobie, ani związana z jej spadkiem w trakcie rozwoju ontogenetycznego. Zwiększona aktywność telomerazy obserwowana w wątrobie pstrąga tęczowego może być związana z jej wysoką zdolnością regeneracyjną. Uzyskane przez Doktorantkę wraz ze współpracownikami wyniki są tym bardziej ważne, że rola telomerazy u osobników z opóźnionym wzrostem (karłowatych) nie została do tej pory dokładnie zbadana.

Celem badań, których wyniki opublikowano w kolejnej pracy:

4. Panasiak, L., Kuciński, M., Hliwa, P., Pomianowski, K. i Ocalewicz, K. (2023). Telomerase activity in somatic tissues and ovaries of diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) females. *Cells*, 2446865,

było oszacowanie ekspresji genu *Tert* w tkankach somatycznych: wątrobie, śledzionie, mięśniach, skrzelach oraz w jajnikach diploidalnych i triploidalnych samic pstrąga tęczowego. W ten sposób Doktorantka zweryfikowała hipotezę nr 3., cyt.: „Aktywność telomerazy w niedorozwiniętych jajnikach triploidalnych pstrągów tęczowych jest niższa, niż w jajnikach osobników diploidalnych, natomiast aktywność telomerazy w organach somatycznych triploidalnych pstrągów tęczowych jest znacząco wyższa niż u diploidalnych osobników.” *Proponuję aby zamiast terminu „niedorozwinięte jajniki” stosować jajniki niedojrzałe, nie w pełni rozwinięte, zredukowane...* Za bardzo cenne uważam, wykorzystanie triploidów pstrąga tęczowego z uwagi na ich unikalne cechy, które wskazała Doktorantka, podane wcześniej w niniejszej recenzji. Osobniki triploidalne charakteryzowały się znacząco wyższą ekspresją genu *Tert* w tkankach somatycznych oraz znacznie zmniejszoną ekspresją tego genu w jajnikach, w porównaniu do pozostałych tkanek i do diploidów. Jajniki osobników triploidalnych były słabo rozwinięte, wypełnione głównie tkanką łączną i zawierały nieliczne oocyty, co mogło spowodować zmniejszenie aktywności telomerazy ponieważ komórki rozrodcze zwykle charakteryzują się wysoką ekspresją *Tert*. Z kolei, wzrost ekspresji genu *Tert* w triploidalnych tkankach somatycznych sugeruje, że wymagają one wyższej aktywności telomerazy, aby poradzić sobie ze stresem środowiskowym i utrzymać wewnętrzną homeostazę.

Odnosząc się do całości rozprawy doktorskiej, bardzo dobrze oceniam przyjęty przez Panią mgr Ligię Panasiak plan badań, wykonanie badań i ich analizę, oraz stopniowe zgłębianie problemu naukowego jakim jest związek aktywności telomerazy i długości telomerów z tempem wzrostu, ploidią i zróżnicowaniem genetycznym osobników pstrąga tęczowego. Za szczególnie interesujące i dobrze napisane uważam merytoryczne dyskusje uzyskanych wyników na tle dobrze dobranych danych literaturowych zawarte w poszczególnych publikacjach, które wraz z treścią rozdziału wprowadzenie, umożliwiają czytelnikowi całościowe spojrzenie na podjęty problem badawczy. Umiejętność interpretacji uzyskanych wyników i ich bardzo dobre przedyskutowanie świadczy o szerokiej wiedzy w zakresie tematyki prowadzonych badań i dojrzałości naukowej Pani mgr Ligii Panasiak. Doktorantka wykazała się umiejętnością stosowania szeregu molekularnych technik badawczych, takich jak: techniki cytogenetyczne, Q-FISH, izolacja RNA z tkanek, synteza cDNA, analiza real-time PCR, immunoenzymatyczny test ELISA oraz analiza preparatów histologicznych gonad. Wyniki analiz wykonanych przez Doktorantkę dobitnie potwierdziły zróżnicowanie lub brak w długości telomerów i aktywności telomerazy u morfologicznie i genetycznie różnych osobników pstrąga tęczowego, ważnego gatunku hodowlanego.

Jak napisałam w pierwszej części recenzji, Pani mgr Ligia Panasiak wraz ze współpracownikami uzyskała wyniki o dużej wartości naukowej. Istotnym atutem prezentowanej rozprawy doktorskiej jest, że Doktorantka w pełni zrealizowała wytyczone cele badań i uzyskała merytorycznie bardzo ważne wyniki, o czym świadczy, m.in. ich opublikowanie w czasopismach o światowej renomie. Trudno było nie pokusić się o dane naukometryczne ponieważ wszystkie cztery publikacje składające się na ocenianą rozprawę doktorską ukazały się w czasopismach z listy JCR, ich współczynnik wpływu - IF i liczba punktów (według listy MEiN) wyglądają następująco: *Genes* 3,5 i 100 pktów, *Journal of Applied Genetics* 2,4 i 140 pktów, *Zebrafish* 2,23 i 100 pktów oraz *Cells* 6,0 i 140 pktów. Zaznaczyć należy, że IF pięcioletni wymienionych czasopism jest jeszcze większy, np. czasopisma *Cells* wynosi 7,67. Sumaryczny IF tych prac to 21,13 i wymiar 480 punktów, co jest doskonałym wynikiem Doktorantki i najlepiej świadczy o wartości merytorycznej uzyskanych wyników.

W trakcie czytania rozprawy, zwróciłam uwagę, że wśród publikacji znajdujących się w rozdziale Bibliografia podano imię i nazwisko niektórych autorów, podczas gdy w większości podano nazwisko i inicjał imienia, np. prawidłowe cytowanie autorów pracy nr. 7 wygląda tak: Remot F, Ronget V, Froy H, Rey B, Gaillard JM, Nussey DH, Lemaitre JF. *Decline in telomere length with increasing age across nonhuman vertebrates: A meta-analysis*. Mol Ecol. 2022 Dec;31(23):5917-5932. doi: 10.1111/mec.16145. Epub 2021 Sep 7. PMID: 34437736. Podobna uwaga dotyczy pracy nr 29.

Nie mam wątpliwości, że zawarte w treści mojej recenzji sugestie są dyskusyjne, a uwaga szczegółowa ma charakter porządkowy, i z całą pewnością nie umniejszają naukowych dokonań Pani mgr Ligii Panasiak.

Podsumowanie

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Ligii Panasiak bez wątpienia stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego jakim było określenie związku aktywności telomerazy i długości telomerów z rozwojem osobniczym, tempem wzrostu, poziomem ploidii i zróżnicowaniem genetycznym ryb, na przykładzie pstrąga tęczowego, ważnego gatunku hodowlanego. **Uzyskane rzetelne wyniki, będące efektem starannie zaplanowanych badań bazujących na dobrze dobranym materiale badawczym, w dużej mierze uzyskanym w efekcie działalności gospodarczej w zakresie akwakultury, z wykorzystaniem nowoczesnych technik molekularnych wraz z ich solidnym, merytorycznym przedyskutowaniem z danymi literaturowymi oraz opublikowanie w znaczących w światowym obiegu czasopismach doskonale dowodzą, że Pani mgr Ligii Panasiak posiada dużą, ogólną wiedzę teoretyczną w zakresie dyscypliny Nauki o Ziemi i Środowisku w dziedzinie Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.**

Rozprawa doktorska Pani mgr Ligii Panasiak pod tytułem: „Changes in the length of telomeric DNA and telomerase activity in diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)” (Zmiany długości telomerowego DNA i aktywności telomerazy u diploidalnych i triploidalnych pstrągów tęczowych (*Oncorhynchus mykiss*)) spełnia wymagania ustawy **Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 roku (art. 190 ust. 2 i 3), wnioskuję zatem o jej dopuszczenie do dalszego procedowania.**

Z uwagi na merytoryczną wartość i duży naukowy potencjał uzyskanych przez mgr Ligię Panasiak wyników oraz ogromny wkład pracy Doktorantki, wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki o Ziemi i Środowisku Uniwersytetu Gdańskiego o wyróżnienie przedmiotowej rozprawy doktorskiej.

Olsztyn, dnia 31 lipca 2023 r.

