

dr hab. inż. Adam Tański, prof. ZUT

Szczecin, 08.09.2026

Katedra Hydrobiologii, Ichtiologii

i Biotechnologii Rozrodu

Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

ul. Kazimierza Królewicza 4

71-450 Szczecin

R E C E N Z J A

rozprawy doktorskiej **mgr inż. Rafała Rożyńskiego** pt. **pt. „Zastosowanie inżynierii
genomowej i hormonalnego odwracania płci w rozrodzie
lipienia europejskiego (*Thymallus thymallus*)”**

zrealizowanej w Katedrze Biologii Morza i Biotechnologii pod kierunkiem
prof. dr hab. Konrada Ocalewicza

Podstawa wykonania recenzji

Opracowanie recenzji rozprawy doktorskiej mgr inż. Rafała Rożyńskiego pod tytułem:
„Zastosowanie inżynierii genomowej i hormonalnego odwracania płci w rozrodzie lipienia
europejskiego (*Thymallus thymallus*)” przygotowano na podstawie pisma w sprawie
przygotowania recenzji od Pani prof. dr hab. Magdaleny Bełdowskiej – Przewodniczącej Rady
Dyscypliny Nauk o Ziemi i środowisku (pismo z dnia 21.07.2026 roku).

Uwagi wstępne, uzasadnienie podjęcia tematu

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr. inż. Rafała Rożyńskiego dotyczy zagadnienia znajdującego się na styku biologii rozrodu ryb, cytogenetyki, biotechnologii akwakultury oraz ochrony zasobów genetycznych populacji naturalnych. Jest to problematyka dobrze osadzona we współczesnych potrzebach gospodarki rybackiej – głównie wylęgarnictwa i zarybień oraz ochrony przyrody. Zarybienia materiałem pochodzącym ze stad hodowlanych mogą bowiem, obok oczekiwanych efektów gospodarczych, prowadzić do niepożądanego introgresji i osłabienia lokalnej struktury genetycznej populacji. W tym kontekście wykorzystanie materiału sterylnego stanowi rozwiązanie interesujące zarówno naukowo, jak i praktycznie.

Za trafny uważam wybór lipienia europejskiego jako obiektu badań. Gatunek ten ma wysoką wartość ekologiczną i budzi szerokie zainteresowanie wśród wędkarzy, a jednocześnie jest wrażliwy na zmiany środowiskowe i presję antropogeniczną. Trudność zdobycia materiału zarybieniowego, a także postępujące zmiany klimatyczne utwierdzają mnie w przekonaniu, że wkrótce obecność lipieni w naszych wodach może być uzależniona od aktywnej ochrony i systematycznych zarybień. Autor nie ogranicza się przy tym do prostego sprawdzenia skuteczności jednej procedury biotechnologicznej. Koncepcja pracy obejmuje cały logiczny ciąg: od oceny wartości użytkowej triploidów, po próbę opracowania technologii uzyskiwania stad wyłącznie żeńskich z wykorzystaniem gynogenezy i hormonalnego odwracania płci.

Konstrukcja rozprawy i spójność cyklu publikacyjnego

Rozprawa ma formę spójnego tematycznie cyklu czterech publikacji, poprzedzonego autorskim opracowaniem syntetycznym. Układ tej części jest poprawny: od szerokiego kontekstu zanieczyszczenia środowiska i zanieczyszczenia genetycznego Autor przechodzi do sytuacji lipienia europejskiego, biologii triploidów, metod oraz produkcji jednopłciowego materiału zarybieniowego. Następnie przedstawia cel i zadania badawcze, materiały i metody, wyniki, podsumowanie i wnioski.

Cykl tworzą cztery prace w których Pan mgr inż. Rafał Rożyński jest pierwszym autorem z udziałem 60% wykonanej pracy:

- Rożyński R., Kuciński M., Dobosz S., Ocalewicz K. (2023). Successful application of UV-irradiated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa to induce gynogenetic development of the European grayling (*Thymallus thymallus*). *Aquaculture* 574, 739720. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2023.7396090 (IF4,4; 140 pkt. MNiSW).

- Rożyński R., Dobosz S., Rożyński M., Ocalewicz K. (2025). The Effect of Triploidy on Gonadal Development, Hematology and Biochemistry in the European Grayling (*Thymallus thymallus*). *Animals* 15, 481. DOI: 10.3390/ani15030481 (IF 3,2; 100 pkt. MNiSW)

- Rożyński R., Kuciński M., Dobosz S., Greszta M., Ocalewicz K. (2025). Growth performance, survival rates and catchability of diploid and triploid European grayling (*Thymallus thymallus*). *Aquaculture Reports* 43, 102908. DOI: 10.1016/j.aqrep.2025.102908 (IF4,0; 100 pkt. MNiSW)

- Rożyński R., Kuciński M., Dobosz S., Kycko A., Ocalewicz K. (2025). Hormonal Masculinization of the European Grayling (*Thymallus thymallus*) Using 11 β -Hydroxyandrostenedione (OHA) and 17 α -Methyltestosterone (MT). *Animals* 15(20): 3059. DOI: 10.3390/ani15203059 (IF 3,2; 100 pkt. MNiSW)

Na uznanie zasługuje wysoki łączny IF – 14,8 oraz punkty MNiSW – łącznie 440. Spójność tego zestawu nie budzi moich wątpliwości. Publikacje nie są jedynie zbiorem prac o tym samym gatunku, lecz odpowiadają kolejnym elementom jednego programu badawczego. Co istotne, doktorant jest pierwszym autorem wszystkich czterech artykułów. Oświadczenia współautorów wskazują na jego zasadniczy udział w realizacji doświadczeń i przygotowaniu prac. W tym przypadku praca w tak dobrym zespole współautorów świadczy o zdobyciu dobrego warsztatu oraz potwierdza umiejętność pracy w zespole - jest to ważne dla oceny samodzielności naukowej.

Cel, hipoteza robocza i logika programu badawczego

Głównym celem było określenie wpływu trzech zestawów chromosomów (3n) na rozwój gonad, przeżywalność, tempo wzrostu i atrakcyjność wędkarską lipienia oraz próba opracowania warunków produkcji wyłącznie samiczych triploidalnych osobników. Cel rozpisano na pięć zadań: analizę funkcjonalności gonad diploidalnych i triploidalnych; analizę wzrostu, przeżywalności i konkurencji pokarmowej; ocenę łowności i waleczności;

opracowanie i optymalizację procedury indukcji gynogenetycznego rozwoju; oraz próbę hormonalnej maskulinizacji. Koncepcję prac i ich spójność oceniam wysoko.

Ocena szczegółowa

Warsztat badawczy jest mocną stroną rozprawy. Badania obejmują doświadczenia hodowlane prowadzone przez wiele miesięcy, procedury manipulacji genomowej, analizy morfologiczne gonad, badania wzrostu i przeżywalności, znakowanie PIT, standaryzowane połowy muchowe, analizy molekularne oraz eksperymenty hormonalne. Taka rozpiętość metod wymaga zarówno szerokiego zespołu badawczego, jak i dobrej organizacji pracy.

Szczególnie cenne jest zestawienie danych z odmiennych poziomów organizacji biologicznej: od chromosomów i markerów molekularnych, przez gonady i cechy fenotypowe, aż po wzrost, przeżywalność i zachowanie podczas połowu. Dzięki temu wnioski nie opierają się na pojedynczym wskaźniku.

Pewne ograniczenie dotyczy ekstrapolacji wyników z warunków kontrolowanych na środowisko naturalne. Dotyczy to zwłaszcza konkurencji pokarmowej oraz doświadczenia wędkarskiego. Osiem sesji połowowych w betonowym obiekcie daje wartościowe porównanie standaryzowane, ale nie zastępuje badań terenowych w rzece, gdzie na zachowanie wpływają przepływ, złożoność siedliska, temperatura, presja drapieżnicza i historia wcześniejszych kontaktów z wędkarzami. Autor korzystając zapewne z własnego doświadczenia, trafnie dostrzega tę granicę interpretacji.

Wyniki dotyczące gonad są przekonujące dla badanego wieku ryb. Triploidalne samice miały silnie zredukowane jajniki pozbawione oocytów, natomiast u triploidalnych samców nie obserwowano spermacji, mimo że część jąder makroskopowo przypominała gonady typowe. Wyodrębniając cztery typy jąder u triploidów zastosowano skrót myślowy przypisując im wartości procentowe z którego na pierwszy rzut oka może wynikać iż suma stanowi 104%. W grupie diploidalnej gonady były prawidłowo rozwinięte i funkcjonalne. Jest to ważny wynik, ponieważ bezpośrednio odnosi się do podstawowej przesłanki stosowania triploidów - ograniczenia ryzyka reprodukcji z rybami z naturalnej populacji.

Jednocześnie sformułowanie „sterylność” powinno być wiązane z zakresem przeprowadzonych obserwacji. Sama publikacja dotycząca gonad również wskazuje potrzebę

badan dłuższych niż dwa lata, zwłaszcza dla samic. Autor w końcowych wnioskach zachowuje tę ostrożność i zaleca ocenę starszych osobników. Takie zastrzeżenie wzmacnia, a nie osłabia wiarygodność pracy.

Triploidy nie wykazywały generalnego pogorszenia tempa wzrostu i przeżywalności. Istotnie wyższy SGR triploidów pojawił się w okresie 15-24 miesięcy, czyli w fazie, w której u diploidów rośnie koszt energetyczny dojrzewania płciowego. Jest to biologicznie interesujące i zgodne z mechanizmem, którego można oczekiwać u ryb o zahamowanym rozwoju rozrodczym.

W doświadczeniu wspólnego chowu ogólne różnice SGR i kondycji nie były istotne statystycznie. W tym miejscu zwracam uwagę na potrzebę bardzo precyzyjnego rozróżniania tendencji liczbowych od efektów potwierdzonych statystycznie. W części syntetycznej dane z chowu wspólnego wskazują na SGR 0,28 u diploidów i 0,26 u triploidów oraz końcowy współczynnik Fultona 0,89 i 0,84, a więc wartości liczbowe są nieco wyższe u diploidów. W streszczeniu rozprawy pojawia się zdanie sugerujące nieco wyższe tempo wzrostu i lepszą kondycję triploidów. To drobna, ale rzeczywista niespójność redakcyjno-interpretacyjna, którą warto skorygować w ostatecznej dokumentacji lub wyjaśnić podczas obrony.

W badanych warunkach triploidy nie ustępowały diploidom pod względem łowności i waleczności. Uzyskały nawet liczbowo wyższą punktację, lecz różnice nie były istotne statystycznie. Najbardziej uprawniony wniosek brzmi zatem: nie wykazano obniżenia analizowanych walorów wędkarskich wskutek zabiegu triploidyacji. Uważam ten wynik za praktycznie istotny, gdyż tego rodzaju materiał zarybieniowy może być atrakcyjną alternatywą zarybieniową tylko wtedy, gdy nie traci podstawowych cech użytkowych.

Za szczególnie wartościowy wynik uważam skuteczne zastosowanie nasienia pstrąga tęczowego, inaktywowanego promieniowaniem UV, do aktywacji jaj lipienia, a następnie zastosowanie szoku wysokiego ciśnienia do diploidyacji. W grupie heterologicznej potwierdzono pełne dziedziczenie matczyne, a wszystkie badane gynogenoty były genetycznymi samicami. W grupie aktywowanej nasieniem homologicznego lipienia wykrywano natomiast u części osobników fragmenty genomu ojcowskiego.

Technologia nie jest jeszcze wolna od ograniczeń: przeżywalność była silnie zmienna, długoterminowo niska, a udział deformacji wyraźnie podwyższony. Nie zmienia to faktu,

że uzyskanie wiarygodnego jedнопłciowego potomstwa metodą heterologicznej gynogenezy stanowi oryginalny i istotny rezultat rozprawy.

OHA powodował silne ujawnienie zewnętrznych cech samczych, lecz nie gwarantował maskulinizacji gonad. MT oddziaływał na gonady wyraźniej, ale w zastosowanych wariantach często prowadził do fenotypu interseksualnego. Nie uzyskano funkcjonalnych neosamców XX.

Wartość tego doświadczenia nie powinna być oceniana wyłącznie przez pryzmat niezrealizowanego celu technologicznego. Wynik negatywny jest naukowo ważny oraz wskazuje, że dla lipienia konieczna jest optymalizacja momentu rozpoczęcia terapii, dawki, czasu ekspozycji i sposobu podawania. Co ważne, opublikowana praca formułuje właśnie taki ostrożny wniosek, zamiast przedstawiać niepełną maskulinizację jako gotową technologię.

Część dyskusyjna cyklu wskazuje na dobrą znajomość literatury dotyczącej podjętego tematu - sterylności ryb, zarybień ochronnych, gynogenezy i hormonalnego różnicowania płci. Autor potrafi umiejscowić własne wyniki w szerszym kontekście badań nad rybami łososiowatymi. Szczególnie dobrze wypada zestawienie rezultatów dotyczących inżynierii genomowej z praktycznym problemem ochrony integralności genetycznej lokalnych populacji.

Za element wymagający dalszego namysłu uważam termin „bezpieczny materiał zarybieniowy”. Bezpieczeństwo genetyczne wynikające z ograniczonej płodności jest tylko jednym wymiarem bezpieczeństwa ekologicznego. Przed wdrożeniem na większą skalę należałoby uwzględnić również przeżywalność w środowisku naturalnym, konkurencję z rybami rodzimymi, zachowania migracyjne, podatność na stres termiczny, dobrostan oraz ewentualny wpływ na sieć troficzną. Rozprawa daje dobrą podstawę do takich badań, ale ich jeszcze nie zastępuje.

Uwagi krytyczne nie mają charakteru dyskwalifikującego. Przeciwnie, dotyczą przede wszystkim granic interpretacji i dalszego rozwoju bardzo interesującego programu badawczego. Podczas obrony prosiłbym o odniesienie się do następujących kwestii:

- Jak wyjaśnia Pan niespójność pomiędzy danymi z chowu wspólnego, gdzie SGR i współczynnik Fultona były liczbowo wyższe u diploidów, a sformułowaniem w streszczeniu sugerującym nieco wyższy wzrost i lepszą kondycję triploidów?

- Które elementy środowiska rzeczno-morskiego mogą najbardziej zmienić względną łowność i waleczność diploidów oraz triploidów i jak zaprojektowałby Pan terenową walidację wyników?
- Jakie zalecenia wprowadziłby Pan dla użytkowników obwodów rybackich w celu utrzymania „czystości populacyjnej” oraz jak by Pan zaplanował odbudowę populacji lipieni w zlewni rzeki, w której kiedyś ten gatunek występował, a obecnie z różnych przyczyn go nie ma.
- Czy znalazł Pan dane literaturowe, bądź ma Pan własne obserwacje dotyczące porównania długości życia osobników triploidalnych i diploidalnych

Podsumowanie

Pierwsze autorstwo we wszystkich publikacjach cyklu, zakres prac przypisanych doktorantowi w oświadczeniach współautorów oraz spójność autorskiego opracowania pozwalają stwierdzić, że jego wkład jest wyraźny i wystarczający. Zwraca uwagę wieloletni charakter doświadczeń oraz konieczność utrzymania ciągłości materiału biologicznego. Takie badania wymagają odpowiedzialności za jakość danych, a nie tylko wykonania pojedynczego pomiaru.

Rozprawa pokazuje również dojrzałość w interpretacji wyników negatywnych. Autor nie próbuje przedstawiać nieudanej pełnej maskulinizacji jako sukcesu technologicznego, lecz wykorzystuje uzyskane dane do wskazania biologicznych ograniczeń i kierunków optymalizacji. Jest to cecha dobrego warsztatu naukowego.

Wniosek końcowy

Rozprawę doktorską mgr. inż. Rafała Rożyńskiego oceniam pozytywnie. Stanowi ona spójne, metodycznie rozbudowane i oryginalne opracowanie problemu wykorzystania inżynierii genomowej oraz hormonalnego odwracania płci w biologii rozrodu lipienia europejskiego. Uzyskane wyniki mają znaczenie poznawcze, ponieważ poszerzają wiedzę o biologii triploidalnego lipienia oraz tworzą podstawę do dalszego rozwoju materiału zarybieniowego ograniczającego ryzyko introgresji genetycznej. Ponadto badania wymagały ogromnej wiedzy praktycznej i umiejętności w hodowli ryb – trwały od 2017 roku. Wykonanie pracy doktorskiej w sposób jaki przedstawił to mgr inż. Rafał Rożyński świadczy o jego wysokiej dojrzałości naukowej. Stwierdzając powyższe, z pełnym przekonaniem uważam, że

kandydat na doktora potrafi prowadzić prace naukowe, jest w stanie zorganizować badania hodowlane i laboratoryjne, opracować materiał badawczy, opracować i właściwie zinterpretować wyniki, a także przedstawić je w formie publikacji co udowodnił w swojej rozprawie doktorskiej.

Stwierdzam, że rozprawa mgr inż. Rafała Rożyńskiego pt. „Zastosowanie inżynierii genomowej i hormonalnego odwracania płci w rozrodzie lipienia europejskiego (*Thymallus thymallus*)” spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim w oparciu o ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2023 r. poz. 742) dlatego przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk o Ziemi i środowisku Uniwersytetu Gdańskiego wniosek o nadanie jej Autorowi stopnia doktora. Ponadto ze względu na poznawczy i co najważniejsze aplikacyjny charakter pracy wnioskuję o wyróżnienie niniejszej pracy. Wszystkie przedstawione wyżej argumenty uzasadniają moją prośbę.

