

Wrocław, 12.05.2025 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Martyny Arciuch – Rutkowskiej
pt. „Opracowanie składu przemysłowej mieszanki uzupełniającej pozytywnie wpływającej na wzrost, rozwój
oraz odporność ryb”

Pośród wszystkich współcześnie żyjących kręgowców, ryby stanowią najliczniejszą oraz najbardziej zróżnicowaną pod względem biologii, przystosowania do określonych/zmiennych warunków środowiskowych, grupę zwierząt. Ryby odgrywają istotną rolę w łańcuchu pokarmowym, regulują liczebność populacji współtowarzyszących organizmów wodnych oraz recyklingują składniki odżywcze w ekosystemie. Rolę jaką ryby odrywają w ekosystemach jest znacząca, należy podkreślić jednak ich znaczenie ekonomiczne, lecznicze czy przemysłowe. Ryby reprezentują najważniejszą grupę kręgowców będącą pożywieniem człowieka. Konsumowane były już w czasach prehistorycznych, a jak dowodzą archeolodzy mogło to mieć miejsce 40 000 lat temu (<https://www.discovermagazine.com/>). Hodowla ryb, jest procesem wysoce złożonym. Wymaga wielu procedur zapewniających dobrostan zwierząt, ich ochronę przed wirusami, bakteriami czy pasożytami. Jednym z głównych czynników ograniczających w hodowli ryb, są czynniki zewnętrzne wywołujące stres hodowanych gatunków. Czynniki stresogenne (substancje toksyczne, zmiany fizykochemiczne wody, koncentracja tlenu w wodzie, temperatura) wpływają na obniżenie odporności ryb, co przekłada się na ich spadek tempa rozwoju, liczebności osobników w hodowli, jak również na wartość odżywczą ich mięsa.

W rozprawie doktorskiej Pani mgr Martyna Arciuch-Rutkowska przeprowadziła badania optymalizacji składu mieszanki pokarmowej wpływającej na rozwój, wzrost oraz odporność trzech popularnych gatunków ryb, o istotnym znaczeniu gospodarczym. Projekt doktorski realizowany był w Katedrze Ichtiologii i Akwakultury, na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, po dopieką promotora prof. dr. hab. inż. Dariusza Kucharczyka oraz promotora pomocniczego dr Michała Krzysztofa Łuczyńskiego.

Praca doktorska stanowi cykl tematycznie spójnych publikacji naukowych, z których dwie zostały już opublikowane w prestiżowych czasopismach o zasięgu międzynarodowym tj.: *Animal Feed Science and Technology*

oraz *Genes*. Trzecia publikacja obecnie jest w recenzji, w czasopiśmie *Research in Veterinary Science*. Doktorantka realizowała projekt doktorski w ramach tzw. „Doktoratu Wdrożeniowego” (MNiSW, edycja IV).

Badania Pani mgr finansowane były również przez „ChemProf Doradztwo Chemiczne s.c. Katarzyna Łuczyńska i Michał Łuczyński” w ramach działalności badawczo-rozwojowej firmy.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska, stanowiąca cykl spójnych tematycznie publikacji, poprzedzona jest rozdziałami: *Wstęp*, *Hipotezy*, *Cele badawcze oraz zakres badań*, *Materiały i metody*, *Wyniki*, *Dyskusja*, *Podsumowanie*, *Wnioski*, *Wdrożenie produktu w firmie ChemProf s.c.*, *Spis literatury*, *Spis tabel*, *Spis rysunków* oraz *Załączniki*. W załącznikach, Doktorantka zawarła publikacje będące podstawą rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia współautorów publikacji. W oświadczeniach współautorzy publikacji podkreślają prominentny wkład Doktorantki w realizację projektu badawczego, obejmującego m. in.: opracowanie koncepcji badań i metod, realizację części eksperymentalnej, analizę uzyskanych wyników oraz opracowanie oryginalnej wersji publikacji.

W rozdziale *Wstęp*, Doktorantka przedstawiła zagadnienia będące „tłem” merytorycznym problemów badawczych podejmowanych w projekcie doktorskim. Rozdział ten, ściśle powiązany z tematem i celem pracy, został opracowany przez Doktorantkę na podstawie najnowszych doniesień literaturowych. Treści podrozdziałów części teoretycznej rozprawy doktorskiej są starannie dobrane i stopniowo wprowadzają czytelnika w zagadnienia omawiane w części eksperymentalnej dysertacji. Uwagę moją przyciągnął zwłaszcza rozdział 1. 1 „Rozwój akwakultury i jej ograniczenia”. W rozdziale tym, Doktorantka skupiła się na zagadnieniach związanych z ograniczeniami w hodowli ryb, wynikających ze spadku odporności ryb na choroby, jako odpowiedź na działanie wielu czynników stresogennych. Sądzę, że ta wiedza określiła *modus operandi* Doktorantki i skłoniła ją do eksploracji problematyki badawczej podjętej w projekcie doktorskim.

Przystępując do realizacji projektu doktorskiego, Doktorantka postawiła cztery jasno określone hipotezy badawcze oraz szczegółowe cele projektu doktorskiego. Ta część rozprawy została przygotowana z dużą precyzją, potwierdzając tym samym bardzo dobre przygotowanie Doktorantki, zarówno merytoryczne jak i metodyczne. Zamieszczenie w dysertacji schematu blokowego przedstawiającego zakres i poszczególne etapy badań jest tego wyrazem. Niewątpliwą zasługą realizowanej pracy doktorskiej było precyzyjne metodyczne opracowanie poszczególnych etapów badawczych przy zastosowaniu szerokiej gamy metod. Ze względu na właściwości komercyjne oraz liczne walory ekonomiczne, do badań, Pani magister wykorzystała trzy popularne w hodowli akwakulturowej gatunki ryb tj. suma afrykańskiego, (*Clarias gariepinus*; sumowate) hybrydę jesiotra rosyjskiego i jesiotra syberyjskiego, (*Acipenser gueldenstaedtii*♀ × *Acipenser baerii*♂; jesiotrowate) oraz sieję (*Coregonus*

marasus; łososiowate). Ryby karmione były paszą komponowaną, powszechnie stosowaną przez polskich hodowców. Do podstawowej paszy, Doktorantka dodawała mieszanki uzupełniające zawierające maślan sodu, β -glukan oraz witaminy C, A, D3, E, K. Mieszanki uzupełniające, Pani mgr przygotowała w kilku wariantach, odpowiednio dla każdego eksperymentu żywieniowego. W kolejnym etapie Doktorantka przeprowadziła analizę parametrów wpływających na odporność ryb tj. mikrobiomu jelitowego (przy zastosowaniu komercyjnych zestawów do izolacji metagenomowego DNA z próbek kału); aktywności lizozymu z krwi ryb (stosując metodę turbidymetryczną z wykorzystaniem komercyjnego zestawu Lysozyme Activity Kit) oraz określiła stężenie kortyzolu we krwi (wykorzystując komercyjny zestaw Fish (Cortisol) ELISA Kit). Interesującym eksperymentem zastosowanym w projekcie doktorskim była analiza ekspresji genu HSP70. Powszechnie wiadomo, że ekspresja genu HSP70, w odpowiedzi na czynniki stresogenne, wyraźnie ulega wzrostowi. Wszystkie dane biometryczne zostały następnie przeanalizowane przez Doktorantkę przy zastosowaniu odpowiednich narzędzi statystycznych. Uważam, że rozdział *Metody*, został przygotowany przez Doktorantkę z dużą precyzją i świadczy o profesjonalnym podejściu Pani magister do realizacji projektu doktorskiego.

Zastosowanie szerokiej gamy metod, pozwoliło Doktorantce na uzyskanie interesujących wyników, nie tylko o charakterze poznawczym jak również aplikacyjnym.

Do najważniejszych wyników uzyskanych przez Doktorantkę zaliczam:

- Opracowanie i optymalizacja składników mieszanki paszowej uzupełniającej.
- Wykazanie pozytywnego działania mieszanki na wzrost oraz poprawę odporności ryb.
- Wykazanie synergicznego oddziaływania kompozycji maślanu sodu w połączeniu z β -glukanem i witaminami na wybrane parametry wzrostowo-rozwojowe oraz odpornościowe ryb. W przypadku siei, wykazanie, że dodatek do pasz w postaci maślanu sodu, β -glukanu oraz witamin znacząco wpływa na poprawę przeżywalności osobników w hodowli.
- Po zastosowaniu mieszanki uzupełniającej, wykazanie wzrostu bioróżnorodności mikrobiomów jelitowych oraz rozwoju bakterii probiotycznych.
- Wykazanie u siei zwiększenia ekspresji genów białka o charakterze czaperonowym, HSP70, po wprowadzeniu do diety mieszanki uzupełniającej.
- Wykazanie zwiększenia aktywności lizozymu pod wpływem wzbogacenia diety hybrydy jesiotrów w maślan sodu, β -glukan oraz witaminy (H4).

Wyniki badań uzyskane przez Doktorantkę wykazały, że wariant suplementacji (FQV1) posiada optymalnie najlepsze efekty w zakresie poprawy parametrów wzrostowych oraz odpornościowych u badanych gatunków ryb, w warunkach laboratoryjnych. Skład mieszanki uzupełniającej testowany był w skali przemysłowej, gdzie odnotowano wyraźny spadek śmiertelności oraz przyspieszenie tempa wzrostu jesiotrów. Wdrażanemu preparatowi w firmie Chemprof Doradztwo Chemiczne s.c. nadano nazwę – FishQuatro.

Pytania do Doktorantki:

1. Wykazała Pani, że w przypadku hybrydy jesiotra, ryby z grupy kontrolnej charakteryzowały się najwyższym poziomem kortyzolu ($33,26 \pm 1,30$ ng/ ml) w porównaniu do ryb z grup suplementowanych. Najniższą koncentrację kortyzolu zaobserwowała Pani w osoczu krwi ryb z grup FQV3 ($27,75 \pm 7,80$ mg/ ml) oraz FQV1 ($28,66 \pm 6,50$ ng/ ml). Średnie stężenie badanego hormonu w osoczu krwi w grupie FQV2 wynosiło $29,18 \pm 3,67$ ng/ ml. Są to rzeczywiście niewielkie różnice, nie wykazujące istotności statystycznej. Czym, może Pani tłumaczyć uzyskanie takiego wyniku?
2. Po zastosowaniu mieszanki uzupełniającej, analizy lizozymu, kortyzolu oraz ekspresji genu HSP70 nie były przeprowadzone na wszystkich gatunkach ryb ujętych w rozprawie doktorskiej. Czy ma Pani na uwadze, takie działania oraz czy szuka Pani jeszcze innych markerów biochemicznych, czy molekularnych pozwalających na określenie poziomu stresu u ryb?
3. W dobie globalnego kryzysu klimatycznego, zmiana klimatu spowodowała wzrost temperatury wody w rzekach i jeziorach, wpływając niekorzystnie na jakość wody i ekosystemy słodkowodne, w tym ryby. Uzyskane w Pani projekcie doktorskim wyniki badań, wyraźnie wskazują, że mieszanka uzupełniająca dodawana do podstawowej paszy wpływa na wzrost oraz kondycję układu odpornościowego ryb. Czy zastanawiała się Pani nad badaniami wpływu mieszanki uzupełniającej wg Pani receptury, na wzrost i odporności ryb *sensu lato*, po zadziałaniu czynnika stresującego jakim jest podwyższona temperatura w hodowli. Czy mogłaby Pani rozwinąć to zagadnienie? Jaki jest stan wiedzy, czy i jakie czynności zostały już podjęte?

Rozprawę doktorską mgr Martyny Arciuch-Rutkowskiej uważam za bardzo dobrą, ponieważ jest wyrazem przemyślanej koncepcji, starannie wykonaną i podsumowaną w merytorycznej dyskusji. Poza wartością czysto poznawczą, badania Doktorantki mają istotne znaczenie aplikacyjne. Doktorantka, wykazała, że stosowanie mieszanki uzupełniającej poprawia znacząco tempo rozwoju oraz odporność ryb, wpływając tym samym na wydajność hodowli, poprzez ograniczenie występowania chorób, a tym samym ograniczenie śmiertelności hodowanych ryb.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Martyny Arciuch-Rutkowskiej pt. „Opracowanie składu przemysłowej mieszanki uzupełniającej pozytywnie wpływającej na wzrost, rozwój oraz odporność ryb” spełnia wymogi stawiane w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t. j. Dz. U. z 2024 roku, poz. 1571 ze zm.). Na tej podstawie wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo o dopuszczenie mgr Martyny Arciuch-Rutkowskiej do dalszych etapów w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora. Mając na względzie omówione powyżej osiągnięcia, wiedzę i umiejętności Doktorantki oraz ogromny wysiłek, który włożyła realizując projekt doktorski, wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo o uhonorowanie pracy stosowną nagrodą.

Z poważaniem

Prof. dr hab. Małgorzata Daczewska

