



Olsztyn, 2012-05-01

Prof. dr hab. Andrzej Ciereszko

Instytut Rozrodu Zwierząt

i Badań Żywności PAN w Olsztynie

07 MAJ 2012

Ocena pracy doktorskiej mgr Edyty Gosz

pt. „Zmiany wybranych cech plemników skarpia *Scophthalmus maximus* (L.) w trakcie tarła z uwzględnieniem potencjalnego wpływu ksenobiotyków z grupy butylocyn” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Marka Ziętary, prof. UG, w Katedrze Ewolucji Molekularnej, Wydziału Biologii, Uniwersytetu Gdańskiego.

Morze Bałtyckie jest płytkim morzem śródlądowym charakteryzującym się różnicowaniem pod względem specyfiki lokalnych ekosystemów, spowodowanych działaniem czynników abiotycznych. Zatoka Pomorska i Zatoka Gdańska stanowią dobry przykład omawianego różnicowania. Zatoka Pomorska wyróżnia się stosunkowo wysokim zasoleniem, specyficznymi wahaniami temperatury i charakteryzuje się wysoką dynamiką zmian środowiskowych. Zatoka Gdańska jest środowiskiem bardziej stabilnym, podatnym na eutrofizację. Na szczególną uwagę zasługuje silne zanieczyszczenie Zatoki Gdańskiej ksenobiotykami organicznymi z grupy butylocyn. Związki te już w stężeniach nanomolowych stanowią zagrożenie dla organizmów wodnych (szczególnie żyjących w wodach słonych) i w dalszej kolejności ich konsumentów, w tym ludzi. Zagrożenie w szczególności dotyczy mieszkańców strefy nadmorskiej Zatoki Gdańskiej preferujących ryby w swojej diecie.

Butylocyny należą do organicznych związków zawierających cynę (związki cynoorganiczne), z których jedną z najpowszechniej występujących (i najbardziej toksycznych) jest tributyllocyna (TBT, ogólny wzór $(C_4H_9)_3Sn$) oraz jej metabolity – di- i monobutylocyna. Wchodzą m.in. w skład farb wykazujących działanie przeciwporostowe, używanych do malowania podwodnych części statków. Ich obecność w środowisku wodnym w dużym stopniu jest konsekwencją wymywania tych składników do środowiska zewnętrznego. W chwili obecnej stosowanie TBT jest zakazane lub wyraźnie ograniczone, niestety związki te akumulują się w osadach dennych, gdzie pozostają przez długi okres, co wydłuża czas narażenia organizmów wodnych na ich toksyczne działanie. Mechanizm toksyczności TBT jest w dużym stopniu ukierunkowany na zaburzenia funkcji rozrodczych, ze względu na jej działanie androgenne.

ZAKŁAD BIOLOGII GAMET I ZARODKA

tel. (089) 539-31-36; fax: (089) 535-74-21; e-mail: a.ciereszko@pan.olsztyn.pl
<http://www.pan.olsztyn.pl/zbiz>



Omawiane zaburzenia zostały opisane w odniesieniu głównie do mięczaków, dane na temat ryb dotyczą głównie wpływu TBT na parametry plemników w warunkach doświadczeń in vitro.

W przedstawionej do oceny rozprawie mgr Edyta Gosz przedstawia wyniki dotyczące charakterystyki nasienia skarpia z dwóch lokalizacji różniących się stopniem zanieczyszczenia TBT – Zatoki Gdańskiej i Zatoki Pomorskiej. Skarp bytuje w środowisku demersalnym (przydennym) i charakteryzuje się stacjonarnym behawiorem, co sugeruje, że może on być gatunkiem modelowym do badań nad oddziaływaniem TBT na ryby w warunkach polowych. Uważam, że podjęta tematyka badawcza jest oryginalna i ważna zarówno dla badań podstawowych w zakresie poszerzenia wiedzy na temat fizjologicznych i biochemicznych podstaw wpływu TBT na rozród ryb oraz dla badań aplikacyjnych w zakresie oszacowania lokalnych zagrożeń w odniesieniu do populacji gatunków ryb bytujących w Morzu Bałtyckim, a także potencjalnych konsekwencji spożywania ryb pochodzących z poszczególnych lokalizacji przez ludzi.

Pracę doktorską mgr Edyty Gosz pt. „**Zmiany wybranych cech plemników skarpia *Scophthalmus maximus* (L.) w trakcie tarła z uwzględnieniem potencjalnego wpływu ksenobiotyków z grupy butylocyn**”, stanowią trzy, niżej wymienione, oryginalne publikacje, w których jest Ona pierwszym autorem. Zgodnie z treścią oświadczeń współautorów tych prac Pani mgr Gosz jest też twórcą koncepcji i głównym wykonawcą opublikowanych badań. W dwóch pracach Jej udział oceniono na 70%, zaś w jednej na 65%.

1. Gosz E, Mirny Z, Horbowy J, Ziętara MS. 2010. Morphometry of turbot spermatozoa in relation to the location and time of capture during the spawning season. *Journal of Applied Ichthyology* 26: 784-788.
2. Gosz, E., Horbowy, J., Ruczyńska, W., Ziętara, M.S. 2011. Enzymatic activities in spermatozoa and butyltin concentrations in Baltic turbot (*Scophthalmus maximus*). *Marine Environmental Research* 72: 188-195.
3. Gosz, E., Horbowy, J., Ruczyńska, W. 2011. Testes specific accumulation of tributyltin in turbot *Scophthalmus maximus* from the southern Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 62: 2563-2567.



Powyższe prace zostały opublikowane w anglojęzycznych czasopismach znajdujących się na Master Journal List publikowanej przez Thomson Scientific (Filadelfia, USA), czyli na tzw. liście filadelfijskiej, (IF = odpowiednio 0,9; 2,2 oraz 2,4). W punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego dwa czasopisma uzyskały 32 punkty, zaś jedno – 20 punktów. Należy także podkreślić, że czasopisma te reprezentują tematykę adekwatną do zakresu prowadzonych prac, co gwarantuje wykonanie recenzji przez kompetentnych recenzentów. J. Appl. Ichthyol. ukierunkowany jest na publikowanie prac z zakresu biologii ryb i rybactwa, m.in. rozrodu ryb, ekologii i ekotoksykologii. Dwa pozostałe czasopisma: Mar. Pollution Bull. i Mar. Environ. Res. publikują prace z zakresu badań środowiskowych i toksykologii środowiska morskiego.

Należy podkreślić, że forma pracy doktorskiej przygotowanej przez mgr Edytę Gosz, w postaci zestawu oryginalnych publikacji z krótkim omówieniem jest nowością w Polsce, gdzie wciąż dominują monografie. Przygotowanie doktoratu w formie zestawu prac jest powszechne w krajach zachodnich i w USA, w Polsce osiąga się to dopiero na etapie habilitacji. Opublikowanie wyników w renomowanych czasopismach i zestawienie ich w formie doktoratu należy uznać za wyróżniające osiągnięcie Autorki.

Omawiana forma pracy doktorskiej wymaga od recenzenta modyfikacji oceny rozprawy w porównaniu do istniejących reguł dotyczących recenzji monografii. Najważniejsza zmiana dotyczy szczegółowej oceny merytorycznej części eksperymentalnej i dyskusji wyników, co stanowi dominującą część recenzji doktoratu w dotychczasowej formie. Ta część oceny została już wcześniej wykonana przez anonimowych recenzentów renomowanych czasopism, którzy są najczęściej światowymi ekspertami w dziedzinie przeprowadzonych badań. Opublikowanie przez Autorkę wyników świadczy o ich wysokiej wartości naukowej, dlatego ich ponowna ocena jest niepotrzebna. W związku z tym, moja recenzja pracy doktorskiej będzie głównie obejmowała ocenę wyboru tematyki badawczej, zasadności zestawienia artykułów oraz możliwości uzyskania uogólnionych wniosków wpływających z analizy trzech prac wchodzących w skład rozprawy.

Ocena wyboru tematyki badawczej i zasadności zestawienia artykułów

Jak wspomniałem wcześniej, podjęta tematyka badawcza jest oryginalna i ważna zarówno dla badań podstawowych, jak i aplikacyjnych. Wszystkie artykuły zawierają wyniki badań nasienia uzyskanego z dwóch wymienionych lokalizacji. Dodatkowo uwzględniono wpływ innych potencjalnych czynników na parametry nasienia, w tym czas poboru prób podczas tarła



oraz biologiczną charakterystykę ryb. Należy zaznaczyć, że wszystkie prace wyróżniają się wnikliwą analizą statystyczną. Wyniki badań opublikowanych w *J. Appl. Ichthyol.* wskazują na istotne różnice w parametrach morfometrycznych plemników skarpia z Zatoki Gdańskiej i Zatoki Pomorskiej. Wartości parametrów główki i wstawki były niższe u ryb z Zatoki Gdańskiej, istotnym czynnikiem dyskryminującym był czas pobrania prób w okresie tarła. Ponieważ przyjmuje się, że bałtyckie populacje skarpia nie różnią się genetycznie, uzyskane różnice przypisano wpływowi czynników środowiskowych. Charakterystyczną cechą plemników skarpia jest ich fenotypowa plastyczność. Wykazano też wyraźny wpływ zaawansowania tarła na procesy starzenia się plemników, które wiążą się ze zmianami morfometrycznymi i metabolicznymi. W pracy opublikowanej w *Mar. Pollution Bull.* dokonano pomiarów TBT i produktów jej rozpadu w tkankach ryb z obu lokalizacji, w czasie dwóch sezonów tarłowych. Najwyższe stężenia omawianych ksenobiotyków stwierdzono w jądrach skarpia z Zatoki Gdańskiej, co wyraźnie wskazuje na zagrożenie potencjału rozrodczego samców z tej lokalizacji. Badania opublikowane w *Mar. Environm. Res.* wykazały, że w nasieniu samców z wymienionej lokalizacji obserwowano wyższe aktywności enzymów związanych z metabolizmem – dehydrogenaz zależnych od NAD^+ i NADP, a także kinazy kreatynowej. Omawiane zmiany mogą być składową mechanizmu oddziaływania związków cynoorganicznych na układ rozrodczy samców ryb.

Reasumując, opublikowane w trzech artykułach wyniki dotyczą analizy zależności pomiędzy zanieczyszczeniami związkami cynoorganicznymi a parametrami rozrodczymi skarpia. Tematyka artykułów jest ściśle ze sobą związana. Uzyskano oryginalne dane z wykorzystaniem różnych podejść metodycznych, w tym określenia i analizy morfometrii plemników i wskaźników biochemicznych. Moim zdaniem, Autorka w omawianych pracach w sposób wyczerpujący zrealizowała zakładane cele. Ponadto, materiał do badań został uzyskany ze środowiska naturalnego, co należy uznać za szczególną zaletę pracy. W mojej opinii rozprawa wnosi bardzo poważny wkład do biologii i toksykologii nasienia ryb. Uzyskane wyniki stanowią solidną podstawę do planowania dalszych doświadczeń, które powinny być ukierunkowane na uzyskanie dowodów bezpośrednich oraz określenia mechanizmu działania TBT na układ rozrodczy ryb.

Uwagi krytyczne i zagadnienia do dyskusji



Opracowanie w języku polskim i angielskim napisane jest w formie streszczenia skupiającego się na najważniejszych wynikach uzyskanych w pracy. Moim zdaniem praca mogłaby zyskać, gdyby część opisowa była skonstruowana raczej jako praca przeglądowa (review lub minireview), gdzie uzyskane w trzech pracach mogłyby być zestawione z aktualną literaturą przedmiotu. Dałoby to możliwość większego uogólnienia i spekulacji na temat znaczenia wyników, zarówno w zakresie badań podstawowych jak i aplikacyjnych. Przykłady tematów (pytań) podaję niżej, będę wdzięczy Autorce za Jej opinię.

1. Czy skarp może być gatunkiem wskaźnikowych dla monitoringu zagrożenia rozrodu ryb przez TBT? Czy może być gatunkiem uniwersalnym, czy też niezbędne będzie wykorzystanie innych gatunków w celu uzyskania pełnego obrazu wpływu zanieczyszczenia?
2. Czy można zbadać źródło zmienności (wysokie wartości odchyłeń standardowych) stężeń TBT w jądrach ryb, np. poprzez określenie szczegółowego rozkładu zanieczyszczeń TBT w Zatoce Gdańskiej?
3. Czy stężenia związków cynoorganicznych, w szczególności w jądrach skarpia są groźne dla zdrowia ludzi? Czy uzyskane wyniki można porównać z danymi uzyskanymi przez zespół prof. J. Falandysza i Jego rekomendacjami? Gdyby wyniki sugerowały zagrożenie dla zdrowia, czy niezbędne jest pilne sprawdzenie innych gatunków bytujących w środowisku demersalnym, np. storni?
4. Jak długo będzie się utrzymywać zagrożenie zanieczyszczeniem TBT w Zatoce Gdańskiej?
5. Jak należy ukierunkować następne badania dotyczące zależności pomiędzy TBT a rozrodem skarpia, w szczególności w zakresie badania funkcji plemników tj. ruchliwości i zdolności zapładniającej? Jak uwzględnić w tych badaniach ewentualny wpływ ochronny białek plazmy nasienia?
6. Jaki jest możliwy mechanizm wpływu TBT na męski układ rozrodczy ryb? Czy obserwowano interseksy w populacji z Zatoki Gdańskiej?

Uwagi redakcyjne

1. Tytuł rozprawy powinien zawierać odniesienie do dwóch lokalizacji, ponieważ był to podstawowy czynnik dyskryminujący we wszystkich pracach.



2. Co oznacza termin „hiperaktywacja enzymów”?

Przedstawione w recenzji uwagi i zapytania są typowym elementem toku recenzji prowadzącym do udoskonalenia pracy. Stanowią też głos w dyskusji nad postępem badań biologii i toksykologii nasienia ryb. Uwagi te nie zmieniają mojej wysokiej oceny pracy.

WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawiona do oceny praca pt. „**Zmiany wybranych cech plemników skarpia *Scophthalmus maximus* (L.) w trakcie tarła z uwzględnieniem potencjalnego wpływu ksenobiotyków z grupy butylocyn**” spełnia wszystkie wymagania – określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki – stawiane pracom doktorskim i w związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego **z wnioskiem o dopuszczenie mgr Edyty Gosz do dalszych etapów przewodu doktorskiego**. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy stosowaną nagrodą.

Prof. dr hab. Andrzej Ciereszko