

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 Pana mgr. Jakuba Dymka,
pod tytułem: „Zróżnicowanie morfologiczne narządu węchu u wybranych przedstawicieli
Chondrichthyes i Osteichthyes” wykonanej w Zakładzie Anatomii Porównawczej Instytutu
Zoologii i Badań Biomedycznych na Wydziale Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska składa się z trzech następujących, oryginalnych publikacji naukowych:

1. Dymek, J., G. Rosenqvist, M. Kuciel, E. R. Lauriano, G. Capillo, G. Zaccone, K. Żuwała, 2021. Micro- and macro- morphology of the olfactory organ of *Syngnathus typhle* (Syngnathidae, Actinopterygii). *Acta Zoologica*, 102:206–219. DOI: 10.1111/azo.12328.
2. Dymek, J., M. Kuciel, K. Żuwała. Structural diversity of olfactory organs in “Osteoglossiformes. *Journal of Zoology*, 314:43-57. DOI:10.1111/jzo.12854.
3. Dymek, J., P. Muñoz, E. Mayo-Hernández, M. Kuciel, K. Żuwała. Comparative analysis of the olfactory organs in selected species of marine sharks and freshwater batoids. *Zoologischer Anzeiger*, Volume 294, September 2021, Pages 50-61. DOI.org/10.1016/j.jcz.2021.07.013

oraz

4. Autoreferatu, który zawiera ponadto nieopublikowane dane dotyczące budowy narządu węchu u igliczni *Doryichthys boaja*.

Celem badań była porównawcza analiza zróżnicowania morfologii narządu węchu u wybranych gatunków ryb chrzęstnoszkieletowych Chondrichthyes i kostnoszkieletowych Osteichthyes w powiązaniu z wybranymi cechami ich biologii. Badania miały także na celu określenie kierunku zmian ewolucyjnych związanych z morfologią narządu węchu wskazanych na podstawie wyników własnych i danych literaturowych.

Struktura i funkcjonowanie narządu węchu są składowymi adaptacji zwierząt w zakresie możliwości detekcji i identyfikacji środowiska, pożywienia, zagrożenia czy rozpoznania osobników płci przeciwnej. Tematyka ocenianej pracy doktorskiej doskonale wpisuje się w poznanie i wyjaśnianie morfologii funkcjonalnej ryb, tych najstarszych żyjących kręgowców szczękowych o zróżnicowanej biologii i formach rozrodu, w zmieniających się warunkach środowiska poddanemu antropopresji, w tym globalnemu ociepleniu. Ponadto, praca zawiera bardzo ważne ujęcie uzyskanych wyników w kontekście wzajemnych powiązań filogenetycznych badanych taksonów ryb i może wskazywać rozwiązania ewolucyjne o charakterze uniwersalnym, obecne u taksonów zwierząt o różnym stopniu pokrewieństwa.

Pan mgr Jakub Dymek jest pierwszym autorem wszystkich wymienionych współautorskich publikacji. W ich powstaniu poza Doktorantem, brało udział dwóch (publ. 2), czterech (publ. 3) oraz sześciu (publ. 1) współautorów. Złożone oświadczenia współautorów wyraźnie wskazują, że udział Doktoranta w przygotowanie tych prac był wiodący i znaczny; wynosił, odpowiednio 55, 70 i 60% (średnio 62%). Co istotne, Doktorant uczestniczył

w pozyskaniu materiału badawczego, planowaniu eksperymentów i ich wykonywaniu oraz opracowaniu uzyskanych wyników, a także manuskryptów prac.

Prace stanowiące rozprawę doktorską Pana mgr Jakuba Dymka opublikowane zostały w bardzo dobrych i dobrze dobranych pod względem profilu naukowego międzynarodowych czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) o współczynniku wpływu (IF), wynoszącym 1.375 (*Acta Zoologica*), 1.521 (*Zoologischer Anzeiger*) i 2.322 (*Journal of Zoology*) oraz wymiarze punktów MEiN, odpowiednio 70, 100 i 70. Wymienione wartości parametrów naukowych (IF = 5.218 i wymiar 240 punktów) dobitnie świadczą o tym, że prace przeszły wymagające i rzetelne recenzje dopuszczające je do druku. Jako recenzent w pełni doceniam ogromną naukową wartość prezentowanych publikacji Doktoranta stanowiących rozprawę doktorską.

Autoreferat, liczący 51 stron, ma układ pracy naukowej i jako taki zawiera w kolejności: Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wstęp, Cel i hipotezy badawcze, Materiał i Metody, Wyniki i Dyskusję oraz Wnioski, a także Bibliografię. Ponadto, opracowanie to zaopatrzone jest w wykaz zastosowanych skrótów, spis rycin i tabel oraz kopie oryginalnych opublikowanych prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Podano także źródła finansowania badań oraz informacje o udziale współautorów publikacji w ich powstaniu.

Obszerny Wstęp wprowadza czytelnika w zagadnienia dotyczące budowy narządu węchu u ryb chrzęstno- i kostnoszkieletowych, w tym zwłaszcza doskonałokostnych Teleostei, poczynając od położenia nozdrzy na głowie ryb do różnic w budowie; w liczbie, kształcie i odległości od siebie nozdrzy wlotowych i wylotowych. Doktorant analizuje i wskazuje na schematach różnicowanie budowy rozety węchowej pod względem kształtu, liczby i sposobu rozmieszczenia blaszek węchowych oraz ich wzajemnego położenia u różnych taksonów. W dalszej części Wstępu opisuje różnicowanie, lokalizację w nabłonku zmysłowym receptorowych neuronów węchowych oraz ich funkcje, u ryb chrzęstno- i kostnoszkieletowych w oparciu o najnowsze dane literaturowe. Wyjaśnia, jak poszczególne typy receptorowych neuronów węchowych (OSNs) można identyfikować w analizach immunohistochemicznych i znakować specyficznymi markerami molekularnymi (Tab. 1).

Wstęp zawiera także interesujący rozdział o filogenezie i wybranych cechach biologii objętych badaniami taksonów ryb chrzęstno- i kostnoszkieletowych. Szkoda, że na zaprezentowanym kladogramie (Ryc. 3., wg. Betancur *et al.* 2017) nie umieszczono gatunków, które opisane zostały w tej części Autoreferatu, co pokazałoby stan badań w zakresie morfologii narządu węchu u ryb.

Wstęp kończy cel pracy oraz cztery, moim zdaniem dobrze sformułowane hipotezy badawcze, z których 1. i 4. mają bardzo ogólny charakter, odnosząc się, odpowiednio do ryb chrzęstnoszkieletowych i wszystkich ryb. Moim zdaniem, stan wiedzy na temat struktury narządu węchu u ryb, nawet powiększony o liczne gatunki opisane przez Doktoranta daje obraz raczej fragmentaryczny, głównie z powodu dużej liczebności gatunków w analizowanych taksonach wyższej rangi, np. w rodzinach.

Treść rozdziału Materiał i Metody wskazuje, że badania wykonano na reprezentatywnym, dobrze dobranym materiale badawczym w postaci 63 osobników; 16 należących do czterech gatunków ryb chrzęstnoszkieletowych i 47 osobników należących do sześciu gatunków ryb doskonałokostnych. Ryby pozyskano z naturalnych siedlisk (iglicznie – 27 osobników, rekiny – 12 osobników) oraz zakupiono w hurtowniach zoologicznych (gatunki ryb kąsaczkształtnych – 20 osobników, płaszczki rzeczne – cztery osobniki). Poza iglicznią *S. typhle* w odniesieniu do innych gatunków nie znalazłam danych odnośnie do płci.

Bardzo pozytywnie oceniam wybór wykorzystanych w badaniach nowoczesnych metod; badania makro- i mikrostruktury narządów węchu prowadzono z wykorzystaniem technik mikroskopii - mikroskopii świetlnej i elektronowej (mikroskop transmisyjny i skaningowy), a także mikroskopu konfokalnego, z zastosowaniem aparatury będącej na wyposażeniu Uniwersytetu Jagiellońskiego oraz Uniwersytetu w Mesynie (mikroskop konfokalny). Na podkreślenie zasługuje międzynarodowa oraz uniwersytecka współpraca w zakresie prowadzonych badań.

W rozdziale Wyniki i Dyskusja, Doktorant scharakteryzował uzyskane wyniki dotyczące makro- i mikro struktury narządu węchu i odniósł je do podobnych danych na temat gatunków różnie spokrewnionych z badanymi. Porównanie budowy narządu węchu samic i samców igliczni *S. typhle* będących w okresie rozrodu (publ. 1.), wykazało, że nabłonek zawierający receptory węchowe pokrywa wewnętrzne ściany tej komory oraz w różnym stopniu, wnętrze nozdrzy przednich i tylnych. Nabłonek węchowy zawiera wszystkie typy receptorowych neuronów węchowych, ale obecność kryptowych OSN wykazano jedynie u samców; zwłaszcza większe ich zagęszczenie występowało u samców inkubujących jaja. Cechą przedstawicieli igliczniowatych wydaje się brak rozety węchowej, ale według zaprezentowanych danych pod względem tej cechy poznano tylko kilka gatunków spośród opisanych 307 w tej rodzinie. Za bardzo cenne uważam wykazane zróżnicowanie w budowie nozdrzy osobników młodocianych i dorosłych igliczni *D. boaja*, a także wykazanie obecności nabłonka węchowego na wewnętrznej stronie nozdrzy oraz pomostu skórniego, co zdaniem Doktoranta opisano po raz pierwszy (Autoreferat, dane nieopublikowane).

W odniesieniu do taksonów ryb kostnojęzykowych Osteoglossomorpha (starszych ewolucyjnie przedstawicieli ryb doskonałokostnych Teleostei) badaniami objęto gatunki, które okresowo oddychają powietrzem atmosferycznym, takie jak: motylowiec *Pantodon buchholzi*, arapaima *Arapaima gigas* i mruk nilowy *Gymnarchus niloticus* oraz arowaną srebrną *Osteoglossum bicirrhosum*, która oddycha wyłącznie tlenem rozpuszczonym w wodzie (praca 3.). U *P. buchholzi* odkryto maczugowatą strukturę nieopisaną dotąd u przedstawicieli Teleostei, która przypuszczalnie zabezpiecza nabłonek węchowy przed wysychaniem i może być adaptacją do okresowego przebywania tego gatunku poza wodą. Z kolei, wykazana u *G. niloticus* obecność nabłonka zmysłowego na dnie komory węchowej także może być związana z ochroną przed wysychaniem. Interesujące dane dotyczą morfometrii narządu węchu, wskazują na różnice w proporcjach wielkości rozety węchowej i długości ciała ryb. Uzyskane wyniki, wskazują na znaczne zróżnicowanie morfologiczne budowy i ultrastruktury narządu węchu u badanych gatunków, reprezentujących różne rodziny, co zdaniem Doktoranta, może być efektem niezależnej ewolucji tego narządu w poszczególnych liniach filogenetycznych. Co więcej, przedstawiciele ryb kostnojęzykokształtnych charakteryzują się znacznym zróżnicowaniem badanych cech narządu węchu od innych Teleostei, co autorzy badań wiążą z wczesnym oddzieleniem się tych ryb spośród innych doskonałokostnych.

Z radością odnotowałam, że publikacja 3. składowa rozprawy doktorskiej ukazała się we wrześniu br. Praca ta zawiera bardzo interesujące porównanie badanych cech narządu węchu u ryb chrzęstnoszkieletowych; dwóch gatunków płaszczyk rzecznych z rodziny Potamotrygonidae, płaszczyki plamistej (*Potamotrygon motoro*) i *P. hystrix* oraz trzech gatunków rekinów żarłaczokształtnych (Carcharhiniformes), z których dwa, mustel siwy *Mustelus mustelus* (mustelowate Triakidae) i rekinek psi *Scyliorhinus canicula* (rekinkowate Scyliorhinidae) występują bliżej szelfu, podczas gdy dwa inne, rekin czarnogęby *Galeus melastomus* (obecnie Pentanchidae, wcześniej Scyliorhinidae) i należący do rzędu koleniokształtnych (Squaliformes), kolczak czarny *Etmopterus spinax* (Etmopteridae) to

gatunki głębokowodne. Różnice między gatunkami słodkowodnymi i morskimi oraz między gatunkami morskimi zajmującymi strefy siedliskowe na różnych głębokościach dotyczą takich cech jak: położenie nozdrzy względem jamy gębowej, gęstość występowania jonocytów (u rekinów) i komórek kubkowych w nabłonku węchowym oraz biochemiczny charakter śluzu.

Za merytorycznie bardzo wartościowy uważam rozdział zawierający porównania morfologii nabłonka węchowego ryb chrzęstno- i kostnoszkieletowych oparte na danych uzyskanych przez Doktoranta (i współpracowników) i danych literaturowych. Doktorant wskazał tendencję do upraszczania struktury rozety węchowej zaobserwowaną u ryb kostnojęzykowych oraz w całym taksonie Teleostei; wskazał cechy plezjo- i apomorficzne w budowie narządu węchu u ryb promieniopłetwych oraz przypuszczalną początkową formę narządu Jacobsona u ryb dwudysznych i ewolucję tego narządu u kręgowców.

Wysoko oceniam bardzo klarowne zaprezentowanie wyników badań zawartych w pracy doktorskiej i danych literaturowych w postaci tabel (od 3 do 6). Zawierają one schematy budowy narządu węchu, kolejno u 11 przedstawicieli ryb chrzęstnoszkieletowych, czterech gatunków reprezentujących starsze ewolucyjnie promieniopłetwe, pięciu gatunków ryb kostnojęzykowych jako starszej ewolucyjnie grupy ryb doskonałokostnych Teleostei oraz kilku przedstawicieli młodszych ewolucyjnie taksonów tych ryb.

Z uwagi na to, że uzyskane wyniki okazały się tak intrygujące, mam kilka pytań do Doktoranta, tytułem uzupełnienia interesujących mnie zagadnień:

1. Czy cecha w postaci braku lub obecności rozety węchowej może wynikać z tego, że stosunkowo niewiele spośród ponad 33 tysięcy gatunków ryb promieniopłetwych i 1200 gatunków ryb chrzęstnoszkieletowych zostało jak dotąd poznanych pod względem tej cechy?
2. Czy brak/obecność rozety węchowej ma miejsce u blisko spokrewnionych gatunków, ale wykorzystujących inne zmysły, np. wzrok, w poszukiwaniu pożywienia? Brak rozety węchowej obserwowany jest u taksonów młodszych ewolucyjnie proszę podać możliwe wytłumaczenie.
3. Jakie cechy morfologii narządu węchu mogą być związane z adaptacjami do migracji ryb? Czy obecność blaszek drugo- i trzeciorzędowych w rozecie węchowej może być związana z wędrówkami ryb, np. jesiotra ostronosego *A. oxyrhynchus*? Jak wygląda zróżnicowanie badanych cech u gatunków odbywających migracje pomiędzy wodami słodkimi i słonymi?
4. Zdziwiająco, jest moim zdaniem, zróżnicowana liczba blaszek węchowych, od 22 do 317 u ryb chrzęstnoszkieletowych i od 1 do 230 u gatunków kostnoszkieletowych. Czy zmienność tej cechy oraz innych analizowanych w pracy cech budowy narządu węchu może być związana z procesem ontogenezy, stanem fizjologicznym, wielkością ryb (co wykazano u młodych i dorosłych *D. boaja*)?

Podaje także uwagi szczegółowe, które wymieniam z obowiązku recenzenta: 1/ Proponuję unikać określeń takich jak: „...tego filogenetycznie zaawansowanego taksonu ryb doskonałokostnych...” Podobnie, właściwsze wydaje się określenie „starszych ewolucyjnie” niż starych ewolucyjnie taksonów ryb. 2/ Materiał badawczy w tab. 2 oraz także prezentacja wyników jest w innej kolejności niż w opisie we wstępie, a potem ponownie odwrócona (str. 43, tab. 3 i 4).

Wracając do oceny Autoreferatu, w rozdziale wnioski, Doktorant interesująco podsumował merytorycznie najważniejsze wyniki własnych badań w kontekście dostępnych podobnych danych literaturowych i podkreślił uzyskane cechy charakterystyczne budowy narządu węchu badanych taksonów. Podsumował, m.in. dane wskazujące na zróżnicowanie

jakości nabłonka węchowego u samców igliczni inkubujących zarodki, co może być związane ze zwiększonym sukcesem rozrodczym tych osobników oraz na adaptacje do krótkotrwałego przebywania poza wodą u przedstawicieli ryb kostnojęzycznych. Oba te wnioski z uwagi na poznanie badanych cech narządu węchu u stosunkowo nielicznych gatunków reprezentujących poszczególne taksony wyższej kategorii systematycznej (np. rodziny), podałabym raczej w trybie przypuszczającym. Za bardzo obiecujący naukowo, uważam wniosek dotyczący upraszczania struktury narządu węchu w różnych liniach ewolucyjnych ryb kostnoszkieletowych. W odniesieniu do badań ryb chrzęstnoszkieletowych (publ. 3) Doktorant wskazał na różnice w położeniu nozdrzy w stosunku do otworu gębowego u rekinów aktywnie pływających i dennych oraz na brak receptorowych neuronów węchowych z rzęskami u badanych przedstawicieli ryb chrzęstnoszkieletowych i potencjalnej ewolucyjnej redukcji tych neuronów i przejęcie ich funkcji przez inne.

Na wyróżnienie, zasługuje rzetelnie udokumentowanie i zaprezentowanie uzyskanych przez Pana mgr. Jakuba Dymka wyników w postaci merytorycznie doskonałych rycin oraz przejrzystych i starannych schematów zawartych w publikacjach, i w Autoreferacie. Co istotne, uzyskane wyniki są dobrą podstawą do dalszych badań i wydają się generować dalsze plany badawcze odnośnie do zróżnicowania morfologii funkcjonalnej narządu węchu u ryb w kontekście ich biologii oraz wzajemnych powiązań filogenetycznych. Mam nadzieję, że Doktorant i współpracownicy mają plany rozszerzenia porównawczych badań na inne taksony ryb doskonałokostnych.

Podsumowanie oceny pracy doktorskiej

Zestawienie danych literaturowych dotyczących budowy i funkcji narządu węchu innych gatunków ryb chrzęstnoszkieletowych i kostnoszkieletowych wskazuje, że wyniki uzyskane w efekcie realizacji przedmiotowej pracy doktorskiej doskonale wpisują się i znacząco uzupełniają wiedzę w tym zakresie. Autoreferat, co jest zupełnie zrozumiałe z powodu skomplikowania badań, zawiera uzyskane wyniki i ich stosunkowo krótkie przedyskutowanie. Natomiast, dokładna charakterystyka wyników w kontekście badań narządu węchu u innych taksonów ryb zawarte zostały w Dyskusjach wszystkich trzech publikacji, składających się na rozprawę doktorską, których treść jest fascynującym, bogatym źródłem informacji, wskazującym biegłe poruszanie się Pana dra. Jakuba Dymka w podjętej tematyce badawczej.

Dobrze dobrane, właściwe metody badań oraz uzyskane rzetelne wyniki znacząco uzupełniające dotychczasową wiedzę w zakresie obranej tematyki badawczej, starannie udokumentowane, przedstawione i przedyskutowane w pracach tworzących rozprawę doktorską, świadczą o tym, że Kandydat posiada umiejętność realizacji badań naukowych i rozwiązywania problemów badawczych. Zaprezentowana powyżej ogromna wartość merytoryczna rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Zróżnicowanie morfologiczne narządu węchu u wybranych przedstawicieli Chondrichthyes i Osteichthyes” świadczy o tym, że jej autor, Pan mgr Jakub Dymek posiada szeroką wiedzę teoretyczną w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Wobec powyższego, w mojej opinii oceniana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w artykule 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595; z 2005 r. Nr 164, poz. 1365; z 2010 r. Nr 96, poz. 620, Nr 182, poz. 1228; z 2011 r. Nr 84,

poz. 455). Pan mgr Jakub Dymek spełnia kryteria stawiane kandydatom w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016 r. poz. 882).

Wnoszę zatem do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pana mgr. Jakuba Dymka do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Z uwagi na złożoność podjętej przez tematyki badawczej, uzyskanie bardzo wartościowych merytorycznie wyników, doskonałe ich udokumentowanie i opracowanie, a następnie opublikowanie w wiodących tematycznie czasopismach, wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr. Jakuba Dymka.

Alicja Boroń



Olsztyn, 7 października 2021 roku