

Dr hab. Waldemar Grzegorzewski,
Katedra Fizjologii i Rozrodu Zwierząt
Wydziału Biotechnologii
Uniwersytet Rzeszowski

Rzeszów, 01-10-2018r.

RECENZJA

pracy doktorskiej Pani mgr inż. Alicji Mizery, stanowiącej zbiór publikacji nt.:
„Optymalizacja środowiska przechowywania nasienia buhajów”
wykonanej w Instytucie Hodowli Zwierząt
pod kierunkiem prof. dr. hab. Mariana Kuczaja jako promotora
oraz dr Jarosława Jędraszczyka jako promotora pomocniczego.

Podstawa formalna i przedmiot recenzji

Recenzja została wykonana w odpowiedzi na pismo (L.dz. BBDDD0000.4100.41.2018 z dn. 24.08.2018) skierowane przez Dziekana Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt dr hab. inż. Adama Romana, prof. nadz.. Oceny dokonano na podstawie dokumentacji, którą stanowi rozprawa doktorska wraz z kopiami trzech prac opublikowanych w roku 2018, składającymi się na rozprawę oraz oświadczeniami pozostałych współautorów, dotyczącymi procentowego udziału w pracy i opisie rodzaju wykonanej pracy.

Ocena rozprawy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Alicji Mizery to 28 stronicowy opis w języku polskim, w tym 2 stronicowe streszczenie w języku angielskim, wraz z 165 pozycjami literatury oraz 3 publikacje składające się na rozprawę, która została napisana zgodnie z wytycznymi z Ustawy o Szkolnictwie Wyższym z dn. 18 marca 2011r. oraz Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dn. 14 marca 2003r. z póź. zm., a także z Rozporządzeniem MNSiSW w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora z dn. 22 września 2011r.

Rozprawa cechuje się starannością edytorską, składa się z właściwej dysertacji obejmującej opis w języku polskim oraz języku angielskim i dołączonych trzech oryginalnych publikacji w języku angielskim, tworzących merytorycznie spójną całość, stanowiąc szczegółowy zbiór wyników uzyskanych przez Autorkę. Przedstawione publikacje oraz czasopisma w których zostały one ogłoszone posiadają odpowiednie wartości współczynnika oddziaływania (IF), wraz z dobrą punktacją MNiSW świadcząca o wysokim poziomie. Dodatkowo sama Doktorantka w każdym z nich jest pierwszy autorem i to bardzo znaczącym autorem. Z załączonych oświadczeń Autorki i współautorów wynika, że Pani magister inżynier oprócz napisania i przygotowania publikacji, wcześniej uczestniczyła w współtworzeniu projektu i koncepcji swoich badań, przeprowadzeniu doświadczeń oraz wykonywanie szeregu



analiz laboratoryjnych, łącznie z analizą wyników, opracowaniem statystycznym wraz z interpretacją otrzymanych wyników. Była jednocześnie autorem korespondencyjnym udzielającym odpowiedzi na otrzymane recenzje z redakcji czasopism. Tworzące, a załączone publikacje w ramach rozprawy doktorskiej, poddane zostały skrupulatnemu procesowi recenzji i to w gronie międzynarodowych ekspertów, jak mniema już na etapie projektu badań, a następnie w procesie publikacyjnym przez członków komitetu redakcyjnego, a opublikowane tezy, wyniki, szczególnie wnioski w tych trzech publikacjach były już szczegółowo analizowane a następnie stały się podstawą do napisania dysertacji doktorskiej Pani mgr inż. Alicji Mizery.

Recenzowanie pracy doktorskiej opartej o recenzowany wcześniej projekt czy oparty o istniejące już publikacje i to z listy filadelfijskiej, następcza zawsze recenzentowi trudności w stosunku do klasycznych prac doktorskich. Proces jak wiemy przygotowania takich prac wymaga od początku dobrego przygotowania i ogromnej starannej analizy, wiedząc jak bardzo są nieraz wymagający recenzenci takich czasopism, choć wiadomo, że takie czasopisma rządzą się swoim prawami, stawiając od początku trudne zadanie szczególnie dla młodych pracowników naukowych.

Konsekwencją więc mojej oceny w postaci recenzji będzie ocena wspomnianej dysertacji, rozumianej jak efekt podsumowania dotychczasowej działalności naukowej Doktorantki i załączonych do rozprawy, zawartych w trzech publikacjach, szczególnie jeszcze raz to podkreślę załączone publikacje były zrealizowane w ramach projektu badawczego, a zatem były kilkakrotnie recenzowane przez wybitnych specjalistów zajmujących się tym zagadnieniem, uważam, że zwalnia mnie to z obowiązku szczegółowej analizy samych prac.

Głównym celem przedstawionych badań w ramach rozprawy doktorskiej było optymalizacja środowiska przechowywania nasienia buhaja poprzez nowe rozwiązania w postaci dodatków do rozrzedzalników. Jak wiemy sztuczna inseminacja u zwierząt gospodarczych jest główną gałęzią szybkiego rozwoju biotechnologii rozrodu a to stanowi możliwość szybkiego rozprzestrzeniania cennych genów bydła i możliwość tworzenia ich rezerw na świecie.

Doktoratka przedstawiając we wstępie historie i możliwości przechowywania plemników, od początku istnienia inseminacji, w której nadal poszukuje się a właśnie optymalizuje się środowisko przechowywania plemników w celu poprawy ruchliwości, żywotności czy to w stanie płynnym, czy mrożonym. W ostatnich latach głównie w tym temacie dużą uwagę badaczy skupiły poszukiwanie coraz lepszych warunków dla przechowywania plemników poprzez właśnie optymalizację środowiska w których się one znajdują. Doktorantka analizuje i przedstawia szczegółowo dotychczasowe wprowadzane modyfikacje samych składów rozrzedzalników, dodatki o działaniu antyoksydacyjnym, dodatki poprawiające żywotności, dodatki poprawiające ruchliwość czy też dodatki przeciwdziałające defragmentację DNA plemników. Wydawało by się więc, że już obecne warunki są już na tyle dobre ale właśnie optymalne i nie można jeszcze ich udoskonalić. A jednak po tak szczegółowej analizie doktorantka przystąpiła do określenia sobie właściwych celów w celu określenia możliwości, jeszcze bardziej, z optymalizowania środowiska przechowywania plemników buhaja. To jak sama Doktorantka zauważyła, że „dążenie do ideału” oraz oczekiwania hodowców motywuje do poszukiwania coraz to nowszych technologii czy narzędzi by jeszcze bardziej poprawić parametry jakościowe. Natomiast swoje cele szczegółowe doktorantka zawarła w poszczególnych załączonych publikacjach w ramach rozprawy doktorskiej a wcześniej również założyła sobie ambitne hipotezy, które poprzez odpowiednie zaplanowane doświadczenia zostały zrealizowane a same wyniki wraz z dyskusjami zostały docenione w opublikowanych i recenzowanych już artykułach.

Mimo, że w poszczególnych publikacjach przedstawiła odpowiednie wnioski wraz z odpowiednim uzasadnieniem, Doktorantka w rozdziale Dyskusja podsumowała całość swojego osiągnięcia zestawiając z innymi doniesieniami. Na podstawie swoich wyników stwierdziła, że dodana witamina B12 umożliwia uzyskanie po procesie kriokonserwacji, lepsze parametry jakości nasienia u buhajów z uwzględnieniem ich ruchliwości, żywotności ale też integralności na poziomie DNA badanych plemników. Po przeanalizowaniu ustaliła, że optymalną dawką witaminy B12 w rozrzedzalniku przeznaczonym dla plemników buhaja jest dawka 2,50 mg/ml.

Kolejnym wyzwaniem z punktu widzenia badań fizjologicznych ale też klinicznych, był dodatek analogów uwalniających gonadotropinę GnRH, co potwierdza ogromną rolę układu hormonalnego i na tym etapie. Zastosowano tu szeroko stosowany syntetyczny analog w postaci octanu busereliny w leczeniu chorób zależnych od hormonów czy też we wspomaganiu rozrodu. Zastosowane różne dawki w swoim badaniu, ale według Doktorantki poziom w ilości 4 mikrog/ml analogu jest tą dawką optymalną poprawiającą znacznie całkowitą ruchliwość plemników, a szczególnie jego udział w ruchu postępowym plemników podczas inkubacji. Warto jest też potwierdzenie, że octan busereliny nie wpływa negatywnie na żywotność plemników, ale nawet po kilku godzinach ruch progresywny, był statystycznie wyższy niż w grupie kontrolnej. Doktorantka potwierdza, że wyższa ruchliwość plemników z dodatkiem analogu wynika z ich też większej żywotności, co potwierdzają inne badania o takiej właśnie zależności między ruchliwością i ich żywotnością. Ostatni zastosowany dodatek do rozrzedzalnika był ekstrakt ze Spiruliny, która jest stosowana jako suplement diety przy zapobieganiu a nawet leczeniu zaburzeń metabolicznych w postaci hipercholesterolemii, otyłości, stanach zapalnych czy chorób sercowo-naczyniowych. Z dostępnej literatury Doktorantka uwzględniła jej podwójną rolę, jako antyoksydanta a pośrednio mającą zdolność modulowania układu odpornościowego. Są też doniesienia o bezpośrednim jej wpływie na masę ciała czy masę jąder czy parametry metaboliczne, liczbę komórek Leydiga czy poziom testosteronu co najprawdopodobniej skłoniło doktorantkę do zastosowania tej substancji w swoich badaniach. Jak wiemy przeciwutleniacze są głównym narzędziem obrony przed stresem, a jak ważne są czy mogą być, szczególnie przy specyficznej strukturze błony komórkowej samych plemników a stwierdzanego, nieraz bardzo niskiego ich poziomu w cytoplazmie, pokazując w ten sposób o podatności na będące obecne wolne rodniki i ich działanie uszkadzające podczas kriokonserwacji, gdzie indukowane zmiany wynikające z przemieszczenia się wody i innych substancji, powodujące generowanie reaktywnych form tlenu. Następstwem tego jest powstawanie uszkodzenia błon mitochondrialnych i plazmatycznych, powoduje fragmentacje chromosomów i DNA a na pewno wpływa na ruchliwość i żywotność plemników. Stres oksydacyjny jest więc stanem związanym ze zwiększonym wskaźnikiem uszkodzenia komórek w tym plemników indukowanych przez reaktywne formy tlenu. Wynika z tego, że udział i dodatek przeciwutleniaczy jest jak najbardziej uzasadniony co Doktorantka w swoich badaniach również potwierdziła.

W swojej jednak ostatecznej konkluzji Doktorantka ostrożnie podchodzi do wyników sugerując dalsze badania uwzględniające przeprowadzenie tzw terenowych zastosowań zaproponowanych dodatków wraz analizą rzeczywistych zapłodnień oraz wpływem na organizm samicy. Sugeruje również rozszerzenie badań z możliwością zastosowania kombinacji dodatków w celu jeszcze większego z optymalizowania środowiska przechowywania plemników oraz rekomenduje obecnie zastosowanie dodatku 2.5 mg/ml kobalaminy lub 4mikrograma/l ekstraktu ze Spiruliny, co świadczy o jej dorzałości, wiedzy i perspektywie dalszych jej badań.

Podsumowując tę część mojej oceny rozprawy Pani mgr inż. Alicji Mizery stwierdzam, że z punktu widzenia fachowości realizowania pracy badawczej, spełnia Ona z nawiązką oczekiwania stawiane w tym zakresie kandydatom do stopnia naukowego doktora nauk rolniczych.

Podobnie forma rozprawy przyjęta przez Doktorantkę – zbiór zbliżonych tematycznie publikacji naukowych – w znacznej, co kolejny raz podkreślam, części ogranicza rolę recenzenta jako oceniającego Jej przygotowanie do pisania tekstów naukowych. Jednak tak sędzę będąc pierwszym autor i jak podkreślają współautorzy była w nich wiodącym badaczem, musiała już wtedy zmierzyć się z pisaniem zarówno projektu jak i końcowego efektu jakim jest publikacja wyników. Dodatkowo wynika to z faktu, iż załączone artykuły naukowe przeszły weryfikacje redakcyjne i wszelkie niedoskonałości oryginalnego tekstu zostały już usunięte na które na pewno Doktorantka musiała się mierzyć. Z kolei komentarz do treści w nich zawartych, przygotowany przez Doktorantkę, nie budzi żadnych zastrzeżeń. Jest zwięzły, dobrze skonstruowany i napisany. Całą rozprawę wyróżnia wszakże fakt, że wszystkie publikacje 1-3 stanowiące treść rozprawy, są przygotowane przez Doktorantkę wraz z odpowiedziami dla recenzentów, bowiem jest w nich również autorem „korespondencyjnym”. Mogę się wprawdzie „pryczepić” do wyboru czasopism o IF sięgającym jedynie ok. 1, oraz oświadczeń współautorów w postaci tylko potwierdzenia samej choć wiodącej Jej roli w tych publikacjach a nie ich indywidualnego wkładu, poszczególnych autorów w danej publikacji, ale jako recenzent musiałem to uczynić.

Ocena kwalifikacyjna i wniosek końcowy

Wykonując swoją pracę doktorską Pani mgr inż Alicja Mizera wykazała się dużą wiedzą z zakresu rozrodu zwierząt, szczególnie u bydła, badań laboratoryjnych potrzebnych do wykonania analiz pobranego materiału min. reakcji Real-time PCR, analizy Wester-blot, wykonania oznaczeń immunoenzymatycznych adiponektyny w osoczu krwi, hodowli in vitro komórek jajnika a także oznaczeń radioimmunologicznych hormonów steroidowych. Dużą część czasu swojej pracy poświęciła bardzo pracochłonnym analizom laboratoryjnym a to zaowocowało ukazaniem się bardzo wartościowymi wyników a przez to publikacji w renomowanych czasopismach naukowych. Z załączonych do rozprawy oświadczeń pozostałych współautorów, dotyczących procentowego udziału w pracy wraz z opisem rodzaju wykonanej pracy wynika, że udział Doktorantki w pracy był bardzo znaczący.

Stwierdzam, że oceniana praca spełnia wszystkie ustawowe wymogi merytoryczne i formalne stawiane rozprawom doktorskim. Stawiam wniosek do Rady Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt we Wrocławiu, o dopuszczenie Pani mgr inż. Alicji Mizery do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na znaczenie wyników wnioskuje również o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej.

z poważaniem

Waldemar J. Grzegorzewski
dr hab. prof. nadzw.