

Prof. dr hab. Paweł Bielański
Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Hodowli Drobego Inwentarza
Ul. Krakowska 1; 32-083 Balice

Balice, 15 września 2022 r.

Recenzja

pracy doktorskiej „Analiza podłoża fizykochemicznego i molekularnego barwy okrywy włosowej gatunku *Mustela putorius furo*” autorstwa Pani mgr inż. Dominiki Doroty Grabolus wykonanej pod kierunkiem Promotora dr hab. inż. Heliodora Wierzbickiego, prof. uczelni oraz Promotor pomocniczej dr hab. inż. Magdaleny Zatoń – Dobrowolskiej, prof. uczelni. Praca powstała w Katedrze Genetyki Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

Recenzja została mi powierzona decyzją Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 28 czerwca 2022 r.

Na samym początku recenzji muszę wyrazić duże zadowolenie z tematyki obranej przez Doktorantkę z wykorzystania włosów pochodzących z jedyne go stada zachowawczego tchórzki biorącej udział w programie ochrony zasobów genetycznych zwierząt futerkowych znajdującego się w Zootechnicznym Zakładzie Doświadczalnym Instytutu Zootechniki PIB Chorzelów Sp. z o.o.

Hodowla tchórzki (*Mustela putorius L.*) zwanych dawniej tchórzofretkami datuje się od lat 30 ubiegłego stulecia. Tchórzofretka była mieszańcem, którego formami wyjściowymi były: tchórz europejski i fretka zwana również tchórzem afrykańskim. W roku 1985 rodzimą populację tchórzofretek uzupełniono materiałem importowanym z Szkocji. Dolew krwi tchórzki szkockiej spowodował korzystne zmiany w okrywie włosowej. Uzyskano zwierzęta w innym typie barwnym (popielato-kremowe), poszukiwanym na światowym rynku futrzarskim. Ponadto poprawiła się gęstość okrywy włosowej oraz uzyskano skrócenie włosów pokrywowych przy jednoczesnym równomiernym zawołowaniu. Skóry tak uszlachetnionych tchórzki uzyskiwały wyższe ceny. Zachowanie korzystnych cech okrywy włosowej do chwili

obecnej wyznacza kierunek prowadzenia prac hodowlanych.

W końcu lat 80. Ubiegłego wieku roczna produkcja skór tchórzy wynosiła około 20 tys. sztuk. Istniejąca w późniejszym okresie dekoniunktura na skóry z mięsożernych zwierząt futerkowych doprowadziła do bardzo znacznego zmniejszenia populacji tych zwierząt.

Drastycznie niska liczebność populacji, w 2005 r. tylko 250 samic stada podstawowego, z czego 138 samic w stadach objętych ochroną, powoduje, że jest to gatunek zagrożony wyginięciem. Gatunek ten stanowi cenny element różnorodności genetycznej mięsożernych zwierząt futerkowych.

Dwubarwność okrywy włosowej (barwa włosów podszyciowych i pokrywowych) decyduje o atrakcyjności skór na rynku futrzarskim. Skór tego gatunku nie można uzyskać w wyniku imitacji skór innych gatunków np. poprzez barwienie. Jasno kremowe, popielate lub z odcieniem pomarańczowym podszycie regularnie pokryte woalem włosów pokrywowych o umaszczeniu ciemnym lub czarnym tworzą wyjątkową kompozycję barwną, która nie jest możliwa do uzyskania w sposób sztuczny. Ta kompozycja barwna okrywy włosowej tchórzy hodowlanych kwalifikuje je do zwierząt futerkowych o wysokich walorach użytkowych.

Duża koniunkturalność na poszczególne typy barwne (popielaty, pomarańczowy) wskazuje na konieczność utrzymania populacji z możliwością wyodrębnienia poszczególnych typów barwnych.

Rozprawa pt. „Analiza podłoża fizykochemicznego i molekularnego barwy okrywy włosowej gatunku *Mustela putorius furo*” została opracowana w klasycznej formie prezentacji prac doktorskich. Całość poprzedzona została „Spisem treści” oraz dwoma krótkimi streszczeniami, w języku polskim i angielskim.

W szeroko zaprezentowanym, liczącym 10 stron, „Wstępie i przeglądzie literatury” Autorka zawarła bardzo szerokie spektrum informacji dotyczących budowy włosa i okrywy włosowej wraz z ich pigmentacją oraz biochemicznych i molekularnych podstaw powstawania umaszczenia. W rozdziale „Cele pracy i hipotezy badawcze” są przedstawione trzy szczegółowe cele badawcze: identyfikacja pigmentu zawartego we włosach fretek i tchórzy różnych odmian barwnych przy użyciu metod chemicznych i w dalszym etapie określenie rozłożenia pigmentu we włosach z uwzględnianiem różnic pomiędzy umaszczeniami za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego. Trzecim celem była analiza trzech wybranych genów (Asip, Mc1r i Tyrp1) pod kątem występowania polimorfizmu pomiędzy

osobnikami w różnych umaszczeniach oraz zmienności między populacją utrzymywaną amatorsko (fretki) i w warunkach fermowych (tchórze). Autorka stawia 4 hipotezy badawcze z które według mnie należy zredukować do 2, 3 i 4. Kwestia poruszona w pierwszej hipotezie nie kwalifikuje według mnie do tego podrozdziału.

W rozdziale „*Material i metody*” podano od jakich zwierząt pobierano próbki włosów. Zestawienie osobników od których pobrano materiał badawczy w podziale ze względu na umaszczenie zebrano w tabeli 1. Klasyfikacja barwy okrywy włosowej fretek została dokonana na bazie standaryzacji American Ferret Association i Associazione Italiana Furetti, natomiast klasyfikacja barwy okrywy włosowej tchórzy dokonano na bazie historycznych już opracowań pochodzących z ubiegłego wieku. Według aktualnie obowiązującego wzorca oceny fenotypu tchórzy wydanego przez Krajowe Centrum Hodowli Zwierząt w Warszawie na początku roku 2022 wyróżnia się dwa typy barwne: popielaty i pomarańczowy. Na korzyść autorki przemawia to że badania rozpoczęto przed uaktualnieniem „Wzorca oceny fenotypu tchórzy”. Jednakże przy późniejszych publikacjach wyników badań należy je uaktualnić i dopasować do obowiązującej nomenklatury. Podobnie rzecz ma się z nazewnictwem od ponad roku zaprzestano używania nazwy „tchórz hodowlany” dla zwierząt utrzymywanych na fermach pozostawiając tylko pierwszy człon „tchórz”. W dalszej części metodyki opisany jest sposób izolacji ziaren pigmentu z użyciem kwasów i zasad oraz obrazowanie przy pomocy mikroskopu skaningowego. Należy podkreślić, że Pani mgr inż. Dominika Dorota Grabolus przeszła specjalistyczny staż w Zakładzie Chemii Bioorganicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej nabywając dodatkowych cennych umiejętności. W dalszej części tego rozdziału Autorka przedstawia szeroko i szczegółowo wykonywane analizy molekularne. Precyzyjnie omówione zostały zastosowane cytogenetyczne procedury diagnostyczne.

Relatywnie najbardziej rozbudowaną częścią dysertacji jest rozdział : ”Wyniki i dyskusja” który zajmuje aż 80 stron. Oprócz opisanie wyników znaczną część tego rozdziału (bo aż 66) stanowią bardzo dobrej jakości ilustracje które niesłychanie wzbogacają i pozwalają w pełni zapoznać się z przygotowaną pracą doktorską. W skład ilustracji wchodzi zdjęcia z mikroskopu skaningowego, elektroforegramy produktów PCR oraz uzupełniające treść rysunki drzewa filogenetycznego. W tekście dyskusji autorka szeroko odnosi się do bardzo ciekawie zebranej literatury wykorzystując aż 166 pozycji (w tym również źródła internetowych baz). Należy podkreślić benedyktyńską pracę w wyszukiwaniu pozycji dotyczących tego gatunku gdyż nie jest ona tak łatwo dostępna. Rozdział „Podsumowanie i wnioski” w sposób bardzo syntetyczny odnosi się do założonych hipotez badawczych i autorka formułuje 6 prawidłowo

sformułowanych wniosków. Pani mgr inż. Dominika Dorota Grabolus stwierdziła, że użycie zaproponowanej metody izolowania z włosów ziaren pigmentu przy użyciu stężonych kwasów i zasad pozwala na uzyskanie melanosomów dla wszystkich badanych umaszczeń z wykluczeniem fretki albinotycznej. Dzięki wykonaniu zdjęć przekrojów oraz powierzchni włosów pokrywowych możliwe było przy zastosowaniu mikroskopu skaningowego zaobserwować rozłożenie ziaren pigmentu wewnątrz rdzenia, budowę struktury rdzenia oraz układu łusek oskórka. Pomędzy badanymi umaszczeniami, które zakwalifikowane zostały do czterech typów kolorystycznych, zaobserwowała Autorka różnice pomiędzy kształtem, rozmiarem oraz układem melanosomów. Nie zostały wykazane związki pomiędzy umaszczeniem fretek i tchórzy oraz kształtem łusek oskórka włosów. Stwierdzono różnicę pomiędzy fretkami a tchórzami w obrębie fragmentu odpowiadającemu eksonowi pierwszemu genu Tyrp1.

Całość rozprawy doktorskiej liczy 138 stron.

Dla przejrzystości pracy niewątpliwie przydatny byłby zamieszczony na początku pracy słowniczek. Proponuję przy publikacji materiałów wyposażyć tekst w objaśnienia skrótów.

Praca napisana jest w sposób klarownym, poprawnym językiem. Zamieszczone w recenzji uwagi mają z reguły charakter redakcyjny lub dyskusyjny, a wymienione niewielkie uchybienia nie mają wpływu na bardzo wysoką ocenę merytorycznej wartości przedstawionej pracy. Szczególnie cenny jest ogromny zakres prac wykonanych przez Doktorantkę. Badania struktury włosów metodami fizykochemicznymi oraz molekularnymi mogłyby stanowić dwie dobre prace.

Dysertacja w sposób znakomity łączy elementy poznawcze z aplikacyjnymi. Wykazuje jakimi metodami badawczymi można rozróżnić tchórze od fretek.

Biorąc pod uwagę wszystkie walory, tak poznawcze jak i aplikacyjne, przedłożonego mi do oceny opracowania pt. „Analiza podłoża fizykochemicznego i molekularnego barwy okrywy włosowej gatunku *Mustela putorius furo*”, którego to dzieła Autorką jest Pani mgr inż. Dominiki Doroty Grabolus, uważam, że spełnia ono całkowicie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, zgodnie z art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017 poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 ust. 2 oraz ust. 3 pkt 2b Ustawy z dnia 3 lipca 2018. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1669 ze zm.). Przy opracowaniu recenzji uwzględniono także przepisy zawarte w Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. – Przepisy

wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1669 ze zm.)

Przedkładam zatem Wysokiej Radzie Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Pani mgr inż. Dominiki Doroty Grabolus do dalszych etapów przewodu doktorskiego w celu nadania Jej naukowego stopnia doktora.

Mając na względzie wysokie walory naukowe ocenianej rozprawy doktorskiej wnoszę jednocześnie o wyróżnienie powyższej pracy.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Paweł Bielański', with a large, sweeping flourish extending to the right.

Prof. dr hab. Paweł Bielański

Balice, dnia 15 września 2022 roku