

**Recenzja rozprawy doktorskiej pt.:**

*„Wpływ promieniowania elektromagnetycznego bliskiej podczerwieni (NIR) na wybrane parametry morfologiczne krwi cieląt ze szczególnym uwzględnieniem parametrów erycytarnych”*

wykonanej przez mgr inż. Martę Kaliciak,  
w Zakładzie Hodowli Bydła i Produkcji Mleka,  
Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
pod kierunkiem dr hab. Macieja Adamskiego, prof. nadzw.

Optymalny przebieg odchowu cieląt to bardzo ważny element dla prawidłowego funkcjonowania stada. Wpływa istotnie na efektywność ekonomiczną prowadzonej produkcji mleka czy mięsa. Odchów młodych zwierząt jest to specyficzny okres w ich życiu i dlatego wymaga szczególnego podejścia hodowców, producentów mleka w przestrzeganiu wszystkich niezbędnych działań mających na celu prawidłowy wzrost i rozwój. Dlatego ważnym jest by wszystkie narządy i układy w tym szczególnie krwionośny (poziom wskaźników hematologicznych krwi) optymalnie działały wpływając korzystnie na prawidłowe funkcjonowanie organizmu zwierząt minimalizując problemy zdrowotne w warunkach produkcyjnych. Tak naprawdę dbałość i „opieka” nad cielęciem nie zaczyna się w momencie przyjścia na świat, czy w okresie siarowym lub późniejszej adaptacji w środowisku (okres postnatalny), ale już w ich życiu prenatalnym. Poprzez zapewnienie cielętom po urodzeniu optymalnego dobrostanu np. siarowego, żywieniowego, środowiskowego itd. stały jego monitoring w pierwszych miesiącach życia można zdecydowanie poprawić ich zdrowotność, minimalizować przypadki zachorowań i maksymalnie ograniczyć w stadzie śmiertelność cieląt w okresie odchowu.

Optymalny przebieg tego okresu w życiu cielęcia to kapitał właściciela, który w przyszłości skutkować powinien zarówno dobrą zdrowotnością zwierzęcia, a co za tym wysoką produktywnością. W konsekwencji przełoży się to na końcowy aspekt ekonomiczny prowadzonej działalności. W celu uzyskania korzystnych efektów odchowu cieląt, hodowcy, producenci mleka muszą na bieżąco monitorować zdrowie zwierząt w stadzie, stosować niekonwencjonalne, możliwe do wykorzystania w praktyce sposoby zapewnienia

prawidłowego statusu zdrowotnego młodym zwierzętom, a nawet podniesienie jego poziomu. Idea ta była zapewne myślą przewodnią dla mgr inż. Marty Kaliciak w podjęciu interesującego, o dużym znaczeniu praktycznym wyzwania mającego na celu ocenę wpływu promieniowania elektromagnetycznego bliskiej podczerwieni NIR (ang. near infrared) na wybrane parametry morfotyczne krwi ze szczególnym nastawieniem na parametry erytrocytarne, a w konsekwencji na poprawę efektywności odchowu cieląt w stadzie.

Spektrometria bliskiej podczerwieni (NIR) jest techniką badawczą mającą duże zastosowanie w wielu dziedzinach życia np. medycynie ludzkiej, jak i metoda oceny ilościowej i jakościowej w przemyśle rolno-spożywczym, farmaceutycznym, kosmetycznym czy drzewnym i in. Promieniowanie elektromagnetyczne bliskiej podczerwieni było również przedmiotem badań *in vitro* i *in vivo* na różnych modelach zwierzęcych, najczęściej przy zastosowaniu emitera laserowego. Brak jest w dostępnej literaturze tematycznie podobnych prac o praktycznym stosowaniu tej metody lub prowadzeniu badań przy wykorzystaniu NIR wykorzystując emiter diodowy w okresie odchowu cieląt. Dlatego podjęte przez Autorkę badania (*in vivo*) nad wykorzystaniem tej metody naświetlania cieląt na poprawę statusu zdrowotnego młodych cieląt poprzez wpływ na poziom wskaźników hematologicznych krwi należy uznać za trafne i pilotażowe z uwagi na zastosowanie promienników diodowych.

#### Układ pracy i ocena ogólna

Wybór tematu w pełni zasadny tak ze względów poznawczych jak i użytkowych, a jego kompleksowe, wnikliwe i obszerne opracowanie zasługuje na podkreślenie i uznanie. Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska stanowi zwięzłą monografię obejmującą 122 strony maszynopisu, 39 tabel w tym 27 z wynikami badań własnych, 16 wykresów, 1 rycinę i 1 zdjęcie oraz 264 pozycje literatury [rozdz. Piśmiennictwo]. Układ pracy konwencjonalny, zgodny z przyjętymi wymogami do tego typu opracowań. Monografia oprócz Streszczenia w jęz. polskim i angielskim (s. 3-6), Spisu treści (s.7-8), Wykazu skrótów (s. 9-10) zawiera 7 podstawowych rozdziałów: Wstęp (s. 11), Przegląd Piśmiennictwa (s. 12-50), Cel pracy (s. 51), Materiał i metody (s. 52-60), Omówienie wyników i dyskusja (s. 61-99), Podsumowanie (s. 100) oraz Piśmiennictwo (s.101-122). Trzy z nich zawierają podrozdziały tj. Przegląd Piśmiennictwa, Materiał i metody i Omówienie wyników i dyskusja.

#### Ocena szczegółowa

Streszczenie bardzo syntetyczne, dobrze odzwierciedla całość pracy doktorskiej. Część teoretyczna rozprawy doktorskiej składa się z dwóch rozdziałów, krótkiego tematycznie ukierunkowanego wprowadzenia do tematu dysertacji „Wstępu” świadczącego o świadomym wyborze zagadnienia badań. W kolejnym teoretycznym rozdziale „Przegląd piśmiennictwa”, mgr inż. Marta Kaliciak w bardzo obszernej a zarazem szczegółowej formie

omówiła kilka istotnych z perspektywy założonego celu badań kwestii. W pierwszym podrozdziale doktorantka przedstawiła przebieg odchowu cieląt ras mlecznych uwzględniając znaczenia odchowu, ocenę wpływu najważniejszych czynników pozagenetycznych (żywienie paszami płynnymi, system i warunki utrzymania, status zdrowotny i śmiertelność cieląt) na jego efektywność w stadzie. W drugiej części tego rozdziału bardzo wnikliwie scharakteryzowano poszczególne elementy morfotyczne krwi, szczegółowo wyjaśniono ich rolę w funkcjonowaniu organizmu. Ponadto bardzo dokładnie omówiono promieniowanie elektromagnetyczne bliskiej podczerwieni (NIR), jego wpływ na organizm, oraz wielorakie zastosowanie terapeutyczne. Do opracowania tego rozdziału Autorka wykorzystwała dużą liczbę tematycznie powiązanej literatury, co w konsekwencji pozwoliło przygotować i omówić w tym obszernym rozdziale w prawidłowej formie i zakresie poszczególne zagadnienia związane z podjętym tematem dysertacji doktorskiej. Świadczy to o dojrzałości, dużej wiedzy i dobrym przygotowaniu merytorycznym mgr. inż. Marty Kaliciak do realizacji przyjętego celu podjętych badań do swojego doktoratu.

Przyjęty przez Autorkę „Cel badań” został jasno sprecyzowany i dotyczy oceny wpływu promieniowania elektromagnetycznego bliskiej podczerwieni (NIR) na elementy morfotyczne krwi cieląt ze szczególnym uwzględnieniem parametrów erytrocytarnych, znajduje odzwierciedlenie w treści rozprawy doktorskiej. Szkoda, że w przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej brak jest rozdziału z przyjętą hipotezą lub hipotezami badawczymi. Aktualnie hipotezy są integralną częścią innych prac dyplomowych: inżynierskich czy magisterskich. Jednak doktorantka przy omawianiu własnych wyników [rozd. Omówienie wyników i dyskusja] odnosiła się do hipotez badawczych. Można przypuszczać, że przed rozpoczęciem badań były one uwzględnione w założeniach pracy. Pomimo tego, nie przeszkodziło to Autorce w prawidłowej, przemyślanej interpretacji uzyskanych wyników badań dla analizowanych składników morfotycznych krwi obu grup doświadczalnych cieląt.

Rozdział „Materiał i metody” składa się z 8 podrozdziałów co umożliwia dobrą orientację w założeniach i metodyce podjętych badań. Badania zostały przeprowadzone w gospodarstwie wielkotowarowym utrzymującym bydło rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej i rasy polskiej czerwonej. Materiał badawczy stanowiło 140 klinicznie zdrowych cieląt płci żeńskiej rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej w wieku 8-10 tygodni (stan zdrowia potwierdzony przez lekarza weterynarii przed i po zakończeniu doświadczenia). Układ doświadczenia prawidłowy, a liczba zwierząt do tego typu badań jest wystarczająca. Cielęta do zaplanowanych badań wytypowano metodą analogów i losowo przydzielono po 70 zwierząt do grupy kontrolnej ( $G_K$ ) i badawczej ( $G_1$ ). Z uwagi na miejsce i warunki przeprowadzenia doświadczenia (gospodarstwo produkcyjne), ich dużą dokładność i wiarygodność uzyskanych wyników, istotnym aspektem

przyjętej metodyki badań były powtórzenia (5 cykli po 14 cieląt w grupie), każdy cykl w innym miesiącu. Zwierzęta z grupy badawczej ( $G_1$ ) poddano ekspozycji na promieniowanie elektromagnetyczne bliskiej podczerwieni w cyklu siedmiodniowym. Jednorazowe naświetlanie cieląt promiennikiem diodowym trwało 6 godz. tj. od 8:00 do 14:00 i odbywało się w pierwszym (D1), trzecim (D3), piątym (D5) i siódmym (D7) dniu doświadczenia. Przed ostatecznym umiejscowieniem promiennika nad kojcem z cielętami przeprowadzono badania wstępne mające na celu wybranie najbardziej optymalnej wysokości. Dla uniknięcia efektu przegrzania cieląt jak i braku jakiegokolwiek oddziaływania promiennika NIR na zwierzę zastosowano optymalną wysokość  $120 \pm 2$  cm co przedstawiono na rycinie 1.

W trakcie każdego powtórzenia badań (5 cykli), lekarz weterynarii od wszystkich cieląt w obrębie każdej grupy doświadczalnej pobierał 5-ciokrotnie krew z żyły szyjnej zewnętrznej do badań morfologicznych w celu określania poziomu analizowanych wskaźników hematologicznych krwi zgodnie z przyjętą metodyką (tabela 4). Podobna zasada obowiązywała przy porównawczej ocenie morfometrycznej erytrocytów (średnica, obwód, elegancja i kształt) z pobrania w dniu PKT0 i D7. Autorka bardzo szczegółowo przedstawiła procedurę postępowania związanego z pobraniem i przygotowaniem krwi do analiz morfologicznych w certyfikowanym laboratorium analitycznym (pobrania w dniach PKT0, D1, D3, D5 i D7) oraz histologicznych (ocena morfometryczna erytrocytów) z pobrania w dniu PKT0 i D7. Wyniki badań własnych w celu weryfikacji istotności zaobserwowanych zmian poddano analizom statystycznym (chi-kwadrat Pearsona, test Welcha i Kołmogorowa Smirnowa) programem R-Project 3.5.2®.

W kolejnym rozdziale „Omówienie wyników i dyskusja” mgr inż. Marta Kaliciak w kilku podrozdziałach (każdy dotyczy jednego wskaźnika morfologicznego) w bardzo zwięzły, zarazem zrozumiały sposób przedstawiła i omówiła interesujące wyniki przeprowadzonych badań własnych dotyczących porównania ocenianych parametrów morfologicznych krwi w obrębie obu grup cieląt: kontrolnej ( $G_K$ ) i badawczej ( $G_1$ ) - cielęta poddane ekspozycji na promieniowanie bliskiej podczerwieni wg. przyjętej metodyki [rozd. Materiał i metody]. Na wstępie rozdziału Autorka przytoczyła skróconą ale ważną informację cyt. "Wszystkie zwierzęta biorące udział w doświadczeniu były klinicznie zdrowe w chwili rozpoczęcia badań (PKT0)" jak i braku pogorszenia stanu zdrowotnego wszystkich cieląt w trakcie przebiegu i po zakończeniu doświadczenia zamieszczoną we wcześniejszym rozdziale „Materiał i metody” [podrozdz. Układ doświadczenia – zwierzęta].

Interpretując wyniki badań własnych Autorka wykazała korzystny wpływ zastosowanego promieniowania elektromagnetycznego bliskiej podczerwieni (NIR) na kształtowanie się stężenia wybranych parametrów morfologicznych, a w szczególności erytrocytarnych we krwi cieląt z grupy badawczej ( $G_1$ ). Było to wyraźnie zauważalnie wraz z wydłużaniem okresu ekspozycji cieląt na ten zabieg, uzyskane wyniki wykazywały

statystycznie istotne zróżnicowanie w stosunku do dnia rozpoczęcia badań (PKT0). W efekcie, wzrost poziomu badanych wskaźników morfologicznych krwi (erytrocyty, hemoglobina) powinien wpłynąć pozytywnie na poprawę statusu zdrowotnego młodych zwierząt, ich witalność, odporność i funkcjonowanie w stadzie.

W przypadku hemoglobiny Autorka przypuszcza, że u cieląt z grupy badawczej ( $G_1$ ), promieniowanie NIR wpłynęło na zwiększenie sprawności szpiku kostnego, co spowodowało wyższy poziom hemoglobiny u cieląt. Wzrost poziomu hemoglobiny w prawidłowych erytrocytach wpływa na zwiększenie jej możliwości transportowych tlenu. Dla zwierzęcia skutkuje to większą wydolnością organizmu przekładając się na przyszłe zdrowie i możliwości produkcyjne. Brak zbliżonych tematycznie przeprowadzonych badań (*in vivo*) dotyczących wpływu naświetlania NIR zwierząt promiennikami diodowymi na ich parametry morfologiczne spowodował trudności mgr. inż. Marcie Kaliciak w przeprowadzeniu odpowiedniego porównania, odniesienia własnych wyników do rezultatów innych badaczy (np. poziom erytrocytów czy wskaźnika hematokrytowego). Autorka dla uwiarygodnienia wyników badań własnych wskazujących na pozytywne oddziaływanie zastosowanej metody promieniowania bliskiej podczerwieni na poziom niektórych elementów morfologicznych krwi wpływających na zdrowie cieląt słusznie sugeruje dalsze kontynuowanie tych badań w praktyce (stada produkcyjne). Jeśli w przyszłości badania związane z tym zagadnieniem byłyby kontynuowane, to warto zastanowić się nad modyfikacją metodyki. Potwierdziłoby to w jeszcze większym stopniu zasadność stosowania promieniowania bliskiej podczerwieni dla poprawy w warunkach produkcyjnych odchowu cieląt w pierwszych miesiącach życia. W przyszłości mogłoby być kolejnym skutecznym narzędziem w jeszcze bardziej precyzyjnym, optymalnym zarządzaniu stadem bydła mlecznego.

Z uwagi na przypisaną mi rolę recenzenta proponowałbym w tym rozdziale wprowadzić pewną konsekwencję interpretowania uzyskanych wyników. W przypadku występowania pomiędzy średnimi różnic statystycznie istotnych tylko na wyższym poziomie ( $\alpha = 0,01$ ), nie ma potrzeby powoływania się w tekście na niższy poziom istotności ( $\alpha = 0,05$ ). Podobnie jest w sytuacji kiedy nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy średnimi na poziomie  $\alpha = 0,05$  to nie jest wskazane w tekście za każdym razem dodatkowe zaznaczanie jej braku na poziomie  $\alpha = 0,01$ . W tekście wystarczy napisać np., że nie stwierdzono statystycznego istotnego zróżnicowania między średnimi z poszczególnych cykli ekspozycji cieląt na promieniowanie NIR. Dotyczy to każdego podobnego przypadku w tym rozdziale niezależnie od analizowanego parametru morfologicznego krwi badanych cieląt. Proponowałbym zamienić w tabelach oznaczenie poziomu istotności statystycznej dla wykazanych różnic, dwoma gwiazdkami (\*\*) istotność na poziomie  $\alpha = 0,01$ , natomiast (\*) istotność na niższym. Dla większej przejrzystości omawianych efektów doświadczenia Autorka w tekście nie powinna powielać wyników wcześniej podanych już w tabelach.

W tekście brak jest odniesienia do wyników różnicujących poziom średnich wartości wskaźnika MCV (średnia objętość krwinki czerwonej) we krwi cieląt obu doświadczalnych grup (tab.18). Sugestie te dotyczą również tabeli 19 obrazującej istotne zróżnicowanie pomiędzy rozkładem gęstości w kolejnych pobraniach krwi pomiędzy grupą kontrolną ( $G_K$ ) i doświadczalną ( $G_1$ ) oraz 9 i 10 wykresu.

Końcowe „Podsumowanie” badań własnych Autorka zawarła w 9 stwierdzeniach adekwatnych do uzyskanych wyników. Z uwagi na tematyczne podobieństwo niektórych stwierdzeń, dla większej przejrzystości tego rozdziału należałoby je połączyć. Szkoda, że tego rozdziału doktorantka dodatkowo nie poszerzyła o własne, interesujące, przemyślenia, interpretacje wyników zamieszczone w poszczególnych podrozdziałach „Wnioskowanie i dyskusja” rozdziału Omówienie wyników i dyskusja.

W rozdziale „Piśmiennictwo” zamieszczono 264 pozycje bibliograficzne niemal w całości obcojęzycznej literatury (11 prac w j. pol.), które posłużyły Autorce do omówienia podjętego tematu badawczego. Należy nadmienić, że połowa publikacji wykorzystanej do opracowania tematu została opublikowana w czasopiśmie naukowych po 2010 roku co stanowi o aktualności wyników badań mgr inż. Marty Kaliciak i wpłynęło na wartość merytoryczną pracy.

Tak wyselekcjonowane piśmiennictwo dało jak wcześniej wspomniano, solidną podstawę i dobre przygotowanie merytoryczne umożliwiające doktorantce podjęcie świadomej i przemyślanej decyzji przeprowadzenia obszernych badań (czasochłonne i pracochłonne) nad zastosowaniem promieniowania elektromagnetycznego bliskiej podczerwieni promiennikami diodowymi w trakcie odchowu młodych cieląt rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej w warunkach produkcyjnych.

W końcowym opracowaniu rozprawy doktorskiej Autorka nie ustrzegła się błędów stylistycznych, literowych, edytorskich, i itp.. Z uwagi na dużą ilość pozycji literatury wykorzystanej do realizacji założonego celu pracy wkradły się nieścisłości dotyczące cytowania prac innych autorów (tekst – Piśmiennictwo i odwrotnie). Wynikało to najprawdopodobniej z przygotowania obszernej, ostatecznej wersji pracy doktorskiej. Zamieszczone w recenzji uwagi wynikają nie tylko z obowiązku, dociekliwości i spostrzegawczości recenzenta, a podstawowym ich zadaniem jest wsparcie przy ewentualnych zmianach w tekście. W tym miejscu należy zaznaczyć, że wyżej wymienione uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej pracy.

Przed upowszechnieniem (publikacja/e) wyników badań własnych przedstawionych w pracy doktorskiej należy ponownie ją przejrzeć i dokonać korekty edytorskiej w celu usunięcia występujących nieprawidłowości.

Przedstawiona do oceny praca doktorska mgr inż. Marty Kaliciak w moim przekonaniu charakteryzuje się dużą wartością naukową, poznawczą i aplikacyjną.

Jest to wynik dobrego przemyślenia wyboru zagadnienia badawczego, jednocześnie prawidłowego zaplanowania i wyboru odpowiedniej metodyki oraz przeprowadzenia badań własnych. Dysertacja ta jest potwierdzeniem dojrzałości, rzetelności, dużej wiedzy i ogromnego zaangażowania doktorantki w realizację obszernego doświadczenia realizowanego w warunkach produkcyjnych i laboratoryjnych.

#### Podsumowanie

Reasumując, mogę z dużą satysfakcją stwierdzić, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Marty Kaliciak pt. „Wpływ promieniowania elektromagnetycznego bliskiej podczerwieni (NIR) na wybrane parametry morfologiczne krwi cieląt ze szczególnym uwzględnieniem parametrów erytrocytarnych” z uwagi na wcześniej podkreśloną dużą wartość naukową, poznawczą i aplikacyjną oceniam pozytywnie i dlatego stwierdzam, że spełnia ona wymogi określone w pkt. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytułach z zakresu sztuki (Dz. U. nr. 65 poz. 595 z późn. zm., Dz. U. z 2014 poz. 1852).

Przewód doktorski mgr inż. Marty Kaliciak został wszczęty w dniu 29 września 2015 roku w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie zootechnika zgodnie zobowiązującymi wówczas przepisami Rozporządzenie MNiSW w sprawie obszarów wiedzy, dziedziny nauki i sztuki oraz dyscyplin naukowych (Dz. U. Nr 179 poz. 1065 z dnia 8 sierpnia 2011 roku). Nadanie stopnia może nastąpić jednak wg nowej klasyfikacji zgodnie Rozporządzeniem MNiSW z dnia 20 sierpnia 2018 r. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin artystycznych (Dz. U. z 2018 poz. 1818) w dyscyplinie **zootechnika i rybactwo**, gdyż zakres rozprawy doktorskiej mieści się tej dyscyplinie naukowej.

Wobec powyższego, praca może stanowić podstawę do nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie **zootechnika i rybactwo**, i dlatego zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr. inż. Martę Kaliciak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Poznań, 21.05.2019 r.

  
.....  
dr hab. inż. Ireneusz Ryszard Antkowiak