

O c e n a
rozprawy doktorskiej mgr inż. Patrycji Waclawik
pt. „Zastosowanie biotechnik rozrodu w reprodukcji wizona amerykańskiego
(*Neogale vison*)”

Efektywność użytkowania zwierząt zależy od wyników rozrodu. Zastosowanie osiągnięć współczesnej nauki w hodowli zwierząt przyspieszyło postęp hodowlany i przyczyniło się do dużych zmian genetycznych w populacjach różnych gatunków zwierząt udomowionych. Postępowi w zakresie preferowanych cech użytkowych zwierząt nie towarzyszy jednak adekwatny wzrost potencjału rozrodczego zwierząt, a wręcz przeciwnie najbardziej uszlachetnione zwierzęta często wykazują zaburzenia procesów rozrodczych i pozostawiają po sobie mniej potomstwa. Z tego powodu za szczególnie istotne uznaje się badania nad opracowaniem metod wspomaganie rozrodu najbardziej wartościowych zwierząt. Przedstawiona do oceny rozprawa wpisuje się w nurt tematyczny takich badań. Autorka podjęła się badań nad zastosowaniem wybranych biotechnik rozrodu w reprodukcji wizona amerykańskiego. Znaczenie i zakres stosowania podjętych badań podkreśla fakt, że gatunek ten należy do najbardziej rozpowszechnionych łasicowatych na Świecie. Mimo licznej populacji i dużego obszaru występowania wizon amerykański należy do gatunków, dla których brakuje wiedzy umożliwiającej zastosowanie biotechnik rozrodu w reprodukcji tego gatunku, a także w rozrodzie innych gatunków dziko żyjących łasicowatych, zagrożonych wyginięciem. Z tego względu tematykę pracy uznaję za ważną, a uzyskanie w niej wyniki mogą mieć znaczenie nie tylko poznawcze ale również uytlytarne.

Przedstawiona do oceny praca to obszerne dzieło, zredagowane na 145 stronach, które zawiera 51 tabel, 35 wykresów i 8 fotografii oraz 3 załączniki. Elementami pracy są rozdziały: wstęp, materiał i metody, wyniki, dyskusja, podsumowanie i wnioski oraz bibliografia (zawiera alfabetyczny wykaz źródeł wykorzystanych w pracy). Do rozprawy dołączono streszczenia w językach polskim i angielskim. Układ i struktura rozdziałów, ich kolejność i formy nie budzą zastrzeżeń. Są one typowe dla rozpraw nauko

wych i adekwatne do tematyki oraz charakteru ocenianej rozprawy.

Pracę rozpoczyna obszerny, zredagowany na 13 stronach wstęp, zawierający wprowadzenie w problematykę rozprawy, rodzaj przeglądu piśmiennictwa na temat biotechnik rozrodu oraz biologii i znaczenia gatunku wizona amerykański, a także założenia i cele pracy. Wprowadzenie powiązane jest z tematyką rozprawy i zawiera uzasadnienie celowości podjęcia takiej tematyki. Jest ono logicznie zredagowane, z zachowaniem zasady „od ogółu do szczegółu”. W części pracy poświęconej przeglądowi piśmiennictwa autorka opisuje biotechniki rozrodu zwierząt, kładąc nacisk na rozwój i znaczenie poszczególnych biotechnik oraz systematykę, biologię i znaczenie gospodarcze wizona amerykańskiego. W tej części zawarto analizę piśmiennictwa, blisko związanego tematycznie z problematyką rozprawy. Zaprojektowano ją logicznie i przejrzysto, posługując się czytelnym i zrozumiałym językiem, przy czym ta część pracy cechuje się zwięzłością formy oraz treści i nie zawiera fragmentów zbędnych. Wstęp kończy sformułowanie celów pracy. Autorka sformułowała 3 główne cele badawcze:

1. Ocena morfometryczna jąder wizona amerykańskiego w i poza sezonem rozrodczym oraz zbadanie możliwej korelacji pomiędzy rozmiarem jąder a liczbą plemników.
2. Kompleksowa ocena nasienia obejmująca badania mikroskopowe, CASA oraz cytometrię przepływową, a także ocena możliwego wpływu umaszczenia na jakość nasienia.

3. Analiza możliwości zastosowania kriokonserwacji nasienia u wizona, obejmująca szczegółową ocenę plemników przed i po mrożeniu-rozmrożeniu oraz wpływu procesu kriokonserwacji na żywotność i ruchliwość gamet.

W rozprawie wykorzystano łącznie 128 pozycji piśmiennictwa, z których znakomitą większość (ponad 95%) stanowią oryginalne prace naukowe opublikowane w języku angielskim, w czasopismach o zasięgu światowym. Piśmiennictwo zostało dobrze dobrane i prawidłowo wykorzystane w rozprawie w części wstępnej i w przeglądzie piśmiennictwa jak również w dyskusji wyników prowadzonej w rozdziale „Dyskusja”. Autorka umiejętnie posługuje się informacjami zaczerpniętymi z piśmiennictwa, opisując stan badań, przytaczając poglądy i podając ważniejsze wyniki. Mgr inż. Patrycja Waclawik wykazuje tym samym wiedzę z obszaru zagadnień ściśle związanych z przedmiotem rozprawy i dokumentuje, że spełnia jeden z podstawowych warunków stawianych kandydatom do uzyskania stopnia doktora, który mówi że rozprawa doktorska powinna „wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną kandydata (doktoranta) w danej dyscyplinie naukowej” (art. 13.1 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym...).

Podstawą wnioskowania w rozprawie są wyniki badań, przeprowadzonych na materiale pobranym *post-mortem* od 70 dojrzałych płciowo samców wizona amerykańskiego, w wieku od 7 miesięcy do 3 lat. Materiał pozyskiwano w sezonie rozrodczym (marzec) - 40 samców i poza sezonem rozrodczym (listopad) - 30 samców. Wykonano pomiary morfometryczne jąder, a z najądrzy pozyskano nasienie do badań. Oceniano ruchliwość i koncentrację plemników przy użyciu systemu CASA oraz morfologię plemników na preparatach mikroskopowych barwionych metodą Vatson'a i Martin'a. Ustalono stosunek ilości plemników żywych do martwych z zastosowaniem barwienia różnicowego eozyna-nigrozyna. Przy użyciu barwienia fluorescencyjnego i techniki cytometrii przepływowej oceniano: ciągłość błon komórkowych oraz akrosomu, potencjał błon mitochondrialnych, peroksydację lipidów, strukturę chromatyny oraz apoptozę plemników. Badania wykonywano na nasieniu świeżo pobranym i na nasieniu rozmrożonym, uprzednio poddanym kriokonserwacji. Stosowane metody badawcze

zostały szczegółowo opisane w rozdziale „Materiał i metody”. Z opisu wynika duże zaawansowanie doktorantki w stosowaniu nowoczesnych technik badawczych i zaawansowanej aparatury naukowej. Wybór narzędzi badawczych uważam za trafny oraz adekwatny do celów pracy.

Do statystycznej interpretacji wyników autorka wykorzystwała obliczenia wykonane przy użyciu programu Projekt R 4.0.3. Pewną trudność sprawiła autorce duża różnorodność analizowanych cech, co stworzyło konieczność każdorazowego sprawdzania zgodności uzyskanych danych z rozkładem normalnym. Zmienność danych skłoniła autorkę do stosowania kilku różnych narzędzi analizy statystycznej. Wpływ sezonu na cechy morfologiczne jąder szacowała Ona z wykorzystaniem testu Wilcozona, do oceny wpływu odmiany barwnej na cechy nasienia zastosowała metodę jednoczynnikowej analizy wariancji lub test Kruskala-Wallisa, a do oceny wpływu procesu zamrażania-rozmrażania na jakość nasienia wykorzystywała test t-studenta lub test Wilcozona. Stosowanie zróżnicowanych metod statystycznych przesadzało o dużej pracochłonności statystycznego opracowania danych i mogło mieć wpływ na interpretację wyników. Dodatkowo zależności między analizowanymi cechami Autorka badała z wykorzystaniem testu korelacji Pearsona. Zastosowane narzędzia analizy statystycznej choć bardzo zróżnicowane i pracochłonne w zastosowaniu uznaję jednak za prawidłowe i adekwatne do charakteru pozyskanych danych.

Główną część rozprawy stanowi bardzo obszerny rozdział „Wyniki”, który opisany jest na 83 stronach opracowania. W rozdziale tym, podzielonym na 3 podrozdziały (morfometryczna ocena jąder, ocena nasienia oraz kriokonserwacja nasienia), autorka szczegółowo opisuje wyniki badań, dokumentując je licznymi tabelami i rysunkami. Jak należało się spodziewać autorce udało się udokumentować istnienie różnic w wielkości jąder w sezonie i poza sezonem reprodukcyjnym wizonów oraz brak obecności żywych plemników w najądrzach pobieranych poza sezonem rozrodczym. Potwierdziła tym samym sezonowy charakter rozrodu wizona amerykańskiego. Udokumentowała też różnice w jakości nasienia samców różnych odmian barwnych tego gatunku. Autorka wykazała także

przydatność plemników samców wizona amerykańskiego do kriokonserwacji. Stwierdziła, że w rozmrożonych próbkach nasienia plemniki wykazują ruch progresywny na poziomie 23%. Wykazała też wrażliwość akrosomu plemników wizona amerykańskiego na procesy mrożenia-rozmrażania. Rozdział Wyniki dokumentuje dobre opanowanie warsztatu badawczego przez doktorantkę. Uzyskane wyniki przedstawiane są rzetelnie i w zgodności ze stanem faktycznym oraz szeroko dyskutowane w rozdziale „Dyskusja”, z wykorzystaniem dobrze dobranego, aktualnego i prawidłowo cytowanego piśmiennictwa naukowego.

Całość kończy podsumowanie i wnioski, wyodrębnione jako osobny rozdział. Wnioski z pracy autorka sformułowała w 5 punktach. Formułując uogólnienia autorka rozprawy trzyma się faktów, a przedstawione uogólnienia mają uzasadnienie w materiale empirycznym.

Podsumowując część wynikową uważam, że Autorka zrealizowała założenia wynikające z tytułu rozprawy i jej celów zdefiniowanych we wstępie. Wykazała się przy tym umiejętnością stosowania zaawansowanych technik badawczych (wykorzystanie systemu CASA w analizie ruchliwości plemników i techniki cytometrii przepływowej w analizie ciągłości błon komórkowych oraz akrosomu, potencjału błon mitochondrialnych, peroksydacji lipidów oraz struktury chromatyny i apoptozy plemników) oraz opanowaniem metody kriokonserwacji nasienia wizona amerykańskiego. Bez wyraźnego związku z tematem rozprawy są natomiast badania nad wpływem pory roku (sezon i poza sezonem) oraz nad porównaniem cech nasienia i cech morfometrycznych jąder różnych odmian barwnych wizona amerykańskiego, którym Autorka poświęciła dużo miejsca w części wynikowej i w dyskusji, i których w całości dotyczą wnioski 1 i 2. Wyniki tych badań są jednak bardzo interesujące i mogłyby być tematem oddzielnej rozprawy.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie konkretnego problemu naukowego, a jej autorka wykazała duże umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Rozprawa spełnia więc warunki stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora, wynikające z art. 13.1 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym..., który mówi że rozprawa

doktorska powinna „*stanović oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.....*”, a kandydat do stopnia naukowego doktora nauk powinien wykazywać „*umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej...*”. **Przedstawiona do oceny rozprawa merytorycznie mieści się w obszarze dziedziny nauk: nauki rolnicze, w dyscyplinie zootechnika i rybactwo i w tym zakresie dokumentuje ona kompetencje naukowe kandydatki. Uwzględniając wartości poznawcze i utylitarne przedstawionej do oceny rozprawy oraz wynikające z niej udokumentowanie wiedzy i opanowania warsztatu naukowego przez doktorantkę stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca pt. „Zastosowanie biotechnik rozrodu w reprodukcji wizona amerykańskiego (*Neogale vison*)” odpowiada warunkom określonym dla rozpraw doktorskich w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki dnia z 14 marca 2003 roku, a jej autorka mgr inż. Patrycja Waclawik wykazała wymagane Ustawą umiejętności. W związku z tym przedstawiam Radzie Naukowej Dyscypliny zootechnika i rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Wrocławiu wniosek o dopuszczenie rozprawy Pani mgr inż. Patrycji Waclawik do publicznej obrony.**

