

Szczecin, dnia 25 maja 2019 roku

Dr hab. inż. Małgorzata Szewczuk
Katedra Nauk o Zwierzętach Przeżuwających
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pani mgr inż. Marty Kaliciak pt. „Wpływ promieniowania elektromagnetycznego bliskiej podczerwieni (NIR) na wybrane parametry morfologiczne krwi cieląt ze szczególnym uwzględnieniem parametrów erytrocytarnych”
wykonanej pod kierunkiem naukowym Pana dr hab. inż. Macieja Adamskiego, prof. nadzw.
UP we Wrocławiu

Odchów cieląt stanowi jeden z istotnych elementów cyklu produkcji mleka i mięsa wołowego. Od tego właśnie okresu, kiedy młode zwierzęta są najbardziej wrażliwe na działanie czynników środowiska zewnętrznego, w dużej mierze zależy późniejsza użytkowość i opłacalność produkcji. Istnieje wiele czynników wpływających na przebieg porodu, żywotność cieląt oraz wyniki ich odchowu. Są one przedmiotem obecnie prowadzonych w różnych ośrodkach naukowych-badawczych w Polsce oraz na świecie badań, co oznacza, że zagadnienia te są w dalszym ciągu aktualne, zarówno z naukowego, jak również hodowlanego punktu widzenia.

Pierwsze miesiące życia cieląt są bardzo ważne, bowiem w tym czasie istnieją największe możliwości kształtowania tempa wzrostu i rozwoju organizmu przyszłej krowy, czy buhaja. Na podstawie m.in. zmiany masy i wymiarów ciała można ocenić prawidłowość przebiegu tych procesów. Największa zachorowalność jak również śmiertelność młodych przeżuwaczy obserwowana jest w okresie karmienia siałą i preparatami mlekozastępczymi, co często powiązane jest z nieprawidłowym utrzymaniem, żywieniem oraz warunkami zoohigienicznymi w miejscu odchowu.

U cieląt, przede wszystkim w pierwszym tygodniu życia, obserwuje się drastyczne zmiany wielu parametrów biochemicznych i hematologicznych krwi wraz z wiekiem, dlatego uzyskane przez Autorkę pracy wyniki poszerzone o kolejne badania mogłyby stać się materiałem przydatnym dla innych badaczy zajmujących się okresem noworodkowym. W szerszym ujęciu mogłyby przyczynić się do powstania bardziej szczegółowych norm

M. Szewczuk

referencyjnych dotyczących wskaźników biochemicznych i hematologicznych krwi szczególnie cieląt (jako wskaźników porównawczych).

Dynamika rozwoju i przebiegu chorób cieląt obliguje hodowców do systematycznego kontrolowania ich zdrowotności, profilaktyki w stadzie oraz podjęcia szybkich działań w przypadku pojawienia się problemów zdrowotnych/ niepokojących sygnałów. W monitorowaniu zagrożeń dobrostanu jak również zdrowotności i zachorowań zwierząt istotne znaczenie mają badania kliniczne w powiązaniu z analizami hematologicznymi i biochemicznymi, dzięki którym możliwa jest ocena stanu homeostazy organizmu będącego pod wpływem różnych czynników środowiska hodowlanego.

Spektrometria w bliskiej podczerwieni (NIR, ang. near infrared) jest jedną z najczęściej wykorzystywanych metod w medycynie ludzkiej i kosmetologii, w przemyśle farmaceutycznym, jak również do badania produktów rolno-spożywczych (m.in. badanie składu podstawowego pasz, półproduktów i produktów rolnych). Zastosowanie tej metody uzasadnione jest również w przetwórstwie mięsa (badanie składu podstawowego, prognozowanie parametrów technologicznych w tym barwa, kruchość, pH, zdolność utrzymania wody). Przy wykorzystaniu tej metody można również identyfikować mięso pod względem rodzaju mięśni, płci, wieku oraz rasy zwierzęcia, z którego pochodzi, czy sposobu jego żywienia. Brak jest natomiast prac badawczych, zarówno w piśmiennictwie krajowym, jak również zagranicznym, z zakresu wykorzystania tej metody w odchowcie cieląt. Zatem, problem badawczy, którym zajęła się w swojej pracy Doktorantka jest aktualny, a jego realizacja uzasadniona. Obserwacje i wyniki uzyskane na podstawie przeprowadzonych przez Panią mgr inż. Martę Kaliciak badań mogą stać się pomocne w analizie stanu zdrowotnego cieląt w oparciu m.in. o wskaźniki hematologiczne oraz w przyszłości przyczynić się do poprawy ich statusu zdrowotnego, bowiem wykorzystanie promienników NIR (w formie stożkowych żarówek diodowych) o mocy 150W i natężeniu 240V może mieć korzystny wpływ na ogólny stan zdrowia, samopoczucie i kondycję młodych zwierząt.

CZĘŚĆ FORMALNA OCENY

Przedstawiona do oceny praca doktorska stanowi monografię zredagowaną wg klasycznego schematu, a jej treść podzielono na rozdziały i podrozdziały. Opracowanie liczy 122 strony maszynopisu, w tym 1 rycinę i fotografię oraz 39 tabel z danymi liczbowymi, 16 wykresów i 264 pozycje odpowiednio dobranego do poruszanego zagadnienia badawczego piśmiennictwa.

Praca została przygotowana zgodnie z zasadami obowiązującymi dla tego typu opracowań i podzielona na 7 rozdziałów: Wstęp, Przegląd piśmiennictwa (z 3 podrozdziałami), Cel badań, Materiał i metody (z 3 podrozdziałami), Omówienie wyników i dyskusja (z 3 podrozdziałami), Podsumowanie, Piśmiennictwo. Ponadto w pracy ujęto Streszczenia w języku polskim i języku angielskim, Spis treści oraz Wykaz skrótów. Uważam, że układ pracy jest poprawny.

Przedłożona mi do recenzji dysertacja została napisana starannie i poprawnie pod względem formalnym i językowym. Nie jest jednak wolna od drobnych błędów stylistycznych, edytorskich, interpunkcyjnych i określanych jako „literówki”. Nie umniejsza to jednak w żaden sposób wartości pracy. Tabele, wykresy i fotografia zostały przyporządkowane do właściwych rozdziałów/podrozdziałów. Jednakże, w tekście pracy brak jest odniesienia do wyników zamieszczonych w tabelach 18 i 19 (strona 79) oraz na wykresach 9 i 10 (strona 80), dotyczących cieląt z grupy kontrolnej i badawczej.

W przedłożonym do oceny manuskrypcie brak jest przyjętych przez Autorkę hipotez badawczych, do których odwołuje się wielokrotnie w kolejnych rozdziałach pracy. Prawdopodobnie początkowo były one uwzględnione, ponieważ w rozdziale Streszczenie pojawia się zdanie „Weryfikacja tej hipotezy wymaga dalszych badań”.

Na początku rozdziału Materiał i metody Doktorantka charakteryzując rasy bydła utrzymywane na fermie użyła sformułowania „...rasy zachowawczej polskiej czerwono-białej.” W moim przekonaniu znacznie właściwszym określeniem byłoby rasy polskiej czerwono-białej utrzymywanej w hodowli zachowawczej. W żaden sposób nie umniejsza to wartości pracy, stanowi jedynie spostrzeżenie recenzenta.

CZĘŚĆ MERYTORYCZNA OCENY

Podjęty temat pracy doktorskiej jest trafny i w pełni zasadny, zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia.

Treść pracy w pełni odpowiada tematowi zawartemu w tytule. Streszczenie bardzo syntetyczne, dobrze odzwierciedla całość pracy doktorskiej.

Przedłożona do recenzji dysertacja stanowi przemyślaną, kompletną całość, w skład której wchodzi wszystkie badawcze i formalne elementy, merytorycznie związane z przeglądem aktualnego piśmiennictwa, wstępem, określeniem celu oraz zakresu pracy, dokładnym opisem metod badawczych oraz właściwą analizą i interpretacją uzyskanych wyników pozwalających na napisanie właściwego podsumowania.

W rozdziale *Wstęp* Autorka przybliży czytelnikowi w sposób syntetyczny zagadnienia związane z okresem neonatalnym w życiu cieląt zwracając uwagę na strategię zarządzania

gospodarstwem, żywieniem oraz warunkami/czynnikami środowiskowymi, które mają wpływ na zdrowotność cieląt oraz ich dobrostan. Przedstawia możliwości wykorzystania właściwości biostymulujących promieniowania elektromagnetycznego bliskiej podczerwieni NIR w powiązaniu z ewentualnym wpływem na elementy morfotyczne krwi, a także zalety wykorzystania tej metody (podkreślając jej bezinwazyjność) w nowoczesnej hodowli bydła. Zdaniem Autorki może stanowić to podstawę przyszłego wykorzystania w medycynie weterynaryjnej i hodowli zwierząt, jednocześnie wprowadzając tym samym czytelnika w problematykę podjętych badań i uzasadniając potrzebę ich wykonania.

Następnie, w rozdziale *Przegląd piśmiennictwa*, Doktorantka rozwija problematykę dotyczącą głównych czynników środowiskowych wpływających na efektywność odchowu cieląt podkreślając jego duże znaczenie w całym cyklu produkcyjnym na fermie, posługując się właściwie dobranym, naukowym piśmiennictwem.

Znaczną część tego rozdziału stanowią zagadnienia związane z utrzymaniem prawidłowego statusu zdrowotnego cieląt. Autorka nakreśliła wyniki badań dotyczące śmiertelności cieląt w pierwszych miesiącach ich życia, skupiając się przede wszystkim na częstotliwości upadków oraz zachorowalności młodych zwierząt uwzględniając przy tym sposób zarządzania odchowem, w tym żywienie (właściwy sposób odpajania siałą), system odchowu, warunki mikroklimatyczne.

Wiele uwagi, ze względu na postawiony w pracy cel, poświęcone zostało analizie piśmiennictwa dotyczącego znaczenia elementów morfotycznych krwi oraz charakteryzujących je parametrów w odniesieniu do pełnionych funkcji w organizmie zwierzęcia. Obszerną, ale dobrze napisaną część rozdziału stanowią zagadnienia związane z wpływem promieniowania elektromagnetycznego bliskiej podczerwieni na organizm oraz jego szerokim zastosowaniem w medycynie i naukach pokrewnych.

Po zapoznaniu się z treścią rozdziału można stwierdzić, że Autorka monografii posiada szeroką wiedzę teoretyczną w obszarze podjętej problematyki badawczej. Tą część dysertacji oceniam wysoko ze względu na merytoryczne opracowanie jak również właściwy dobór źródeł.

Za *cel badań* Doktorantka obrała analizę wpływu promieniowania elektromagnetycznego bliskiej podczerwieni (NIR) na elementy i parametry morfotyczne krwi cieląt ze szczególnym uwzględnieniem parametrów erytrocytarnych. Sformułowanie celu badawczego jest jasne i rzeczowe.

Wartym uwagi i podkreślenia jest bardzo szeroki zakres prowadzonych badań Autorki pracy opisany szczegółowo w rozdziale *Materiał i metody*.

Pierwsza część dotyczy charakterystyki gospodarstwa, zwierząt biorących udział w doświadczeniu oraz szczegółowego układu i przebiegu doświadczenia. Druga natomiast, obejmuje analizę parametrów morfotycznych krwi cieląt (RBC- poziom krwinek czerwonych we krwi, HGB- stężenie hemoglobiny we krwi, Hct- wskaźnik hematokrytowy, MCHC- średnie stężenie hemoglobiny w jednostkowej objętości erytrocytów, MCV- wskaźnik średniej objętości krwinki czerwonej, MCH- wskaźnik średniej masy hemoglobiny w krwince czerwonej, PLT- poziom trombocytów we krwi, WBC- poziom krwinek białych we krwi), ocenę morfometryczną preparatów powstałych z rozmazów krwi (krwinek czerwonych, w tym obrysu i pomiaru wielkości morfometrycznych erytrocytów, pomiaru wielkości: średnicy, obwodu) oraz oszacowanie elongacji i współczynnika kolistości.

Do doświadczenia metodą analogów wytypowano losowo 140 klinicznie zdrowych cieliczek rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej w wieku od 8-10 tygodni. Zwierzęta podzielono na dwie równe grupy: badawczą (G_1) poddaną ekspozycji na promieniowanie elektromagnetyczne z zakresu bliskiej podczerwieni (NIR) oraz kontrolną (G_k) niepoddanej ekspozycji na promieniowanie NIR, żywioną i utrzymywaną w analogicznych warunkach jak cielęta w grupie G_1 .

Warto podkreślić, że doświadczenie przeprowadzono w warunkach produkcyjnych gospodarstwa, co wymagało od badacza dużej elastyczności, ale również i konsekwencji w realizowaniu założonej metodyki. Z tego względu Doktorantka uwzględniła 5 powtórzeń, czyli 5 cykli po 14 cieląt w grupie, przy czym każdy cykl stanowił inny miesiąc (styczeń, marzec, lipiec, wrzesień, listopad). Dało to możliwość określenia ewentualnego wpływu poszczególnych pór roku na analizowane parametry, jak również uzyskanie miarodajnych wyników. W celu uniknięcia ewentualnego wpływu promieniowania NIR na temperaturę ciała zwierząt w trakcie 6- godzinnej ekspozycji przeprowadzono badania pilotażowe pozwalające na właściwe zainstalowanie promiennika w miejscu przebywania cieląt (kojcu). Podjęcie tego typu badań wymagało od Doktorantki dużej wiedzy, zaangażowania, a przede wszystkim umiejętnego planowania i zorganizowania warsztatu pracy.

Zwierzęta z grupy badawczej (G_1) poddano ekspozycji na promieniowanie elektromagnetyczne bliskiej podczerwieni w cyklu siedmiodniowym w godzinach od 8:00 do 14:00 w pierwszym (D1), trzecim (D3), piątym (D5) i siódmym (D7) dniu trwania doświadczenia. Cielęta z obu grup były pod stałą kontrolą lekarza weterynarii, który podczas każdego powtórzenia badań, a więc 5-krotnie pobierał krew z żyły szyjnej zewnętrznej do badań morfologicznych (PKT0, D1, D3, D5, D7). Do analizy morfometrycznej erytrocytów

krwę pobrano przed rozpoczęciem cyklu naświetlań promieniowaniem NIR (PKTO) w grupie badawczej oraz w 7 dniu doświadczenia (D7).

W mojej opinii część doświadczalna została prawidłowo zaplanowana, zorganizowana i przeprowadzona, a uzyskane wyniki poprawnie opracowane statystycznie (przy wykorzystaniu programu R-Project 3.5.2®).

Rozdział *Omówienie wyników i dyskusja* – najobszerniejszy w pracy, podzielono na podrozdziały jest bardzo szczegółowym, a zarazem przystępnie napisanym opisem uzyskanych rezultatów badań.

Wyniki zamieszczone zostały w tabelach oraz na wykresach w taki sposób, aby możliwe było ich porównanie.

Zaobserwowany przez Doktorantkę spadek poziomu krwinek białych we krwi cieląt (WBC) poddanych ekspozycji na promieniowanie NIR, niebędący leukopenią, niewpływający na zdrowotność cieląt, mógł wynikać z wpływu tego promieniowania na poziom cytokin. Jednakże, aby można było to potwierdzić należy prowadzić dalsze badania, bowiem brakuje doniesień z tego zakresu.

Spośród uzyskanych przez Autorkę dysertacji doktorskiej wyników na uwagę zasługuje potwierdzona statystycznie zależność między poziomem erytrocytów we krwi (RBC), wartościami średnimi poziomu hematokrytu (Htc), poziomem hemoglobiny (HGB) związana z dłuższą (w późniejszym czasie) ekspozycją zwierząt na promieniowanie elektromagnetyczne bliskiej podczerwieni w odniesieniu do pierwszego dnia doświadczenia. Biorąc pod uwagę ich funkcje w organizmie zwierząt, może mieć pozytywny wpływ na status zdrowotny cieląt w trakcie odchowu, jak również na ich dobre samopoczucie i kondycję, a w konsekwencji uzyskanie wartościowych zwierząt przeznaczonych na remont stada lub do sprzedaży.

Dotychczas nie przeprowadzono tego typu badań, dlatego trudno jest Doktorantce odnieść się do wyników badań innych autorów i jednoznacznie wyciągać wnioski. Jednakże uzyskane wyniki dotyczące parametrów i wskaźników hematologicznych, przeprowadzane na bieżąco przez lekarza weterynarii badania kliniczne jak również obserwacje Autorki eksperymentu, skłaniają do potrzeby kontynuacji tych badań, szczególnie w warunkach fermowych na dużych populacjach zwierząt.

W trakcie opisywania i porównywania uzyskanych wyników, w moim przekonaniu nie ma potrzeby powoływania się w tekście na niższy poziom istotności ($\alpha = 0,05$), w przypadku stwierdzenia pomiędzy średnimi analizowanych parametrów różnic statystycznie istotnych

wyłącznie na poziomie $\alpha = 0,01$. Analogicznie w przypadku, gdy nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy średnimi na poziomie $\alpha = 0,05$, nie ma potrzeby zaznaczanie jej braku na poziomie $\alpha = 0,01$. Taka forma prezentowania uzyskanych wyników ułatwia czytelnikowi ich analizę.

Rozdział *Podsumowanie* zawiera syntetyczny opis uzyskanych wyników; stanowi dziewięć punktów o charakterze stwierdzeń, które moim zdaniem można byłoby w większości połączyć. Należy jednak podkreślić, że stanowią one pełne odzwierciedlenie uzyskanych wyników, jak również są efektem trafnie przeprowadzonej dyskusji. W tej części pracy mogłyby znaleźć miejsce również spostrzeżenia, które Autorka śmiało prezentuje we wcześniejszych rozdziałach manuskryptu.

Podsumowując, uważam, że uzyskane wyniki badań, oprócz niewątpliwych wartości poznawczych i naukowych, mają bardzo duże znaczenie praktyczne.

Ostatni rozdział stanowi Piśmiennictwo, w którym Autorka przedstawia 264 pozycje właściwie dobranego piśmiennictwa w 96% obcojęzycznego, w większości opublikowanego w ciągu ostatnich 9 lat. Jak już wcześniej zostało podkreślone, świadczy o dobrej znajomości piśmiennictwa z zakresu realizowanych badań. Nie wszystkie prace znajdują odniesienia w treści dysertacji doktorskiej, co na pewno zostanie uwzględnione przy publikowaniu wyników.

PODSUMOWANIE

Stwierdzam, że cel naukowy postawiony przez Doktorantkę został w pełni zrealizowany poprzez zastosowanie właściwie dobranych metod badawczych. Uzyskane wyniki zostały wnikliwie opisane i skonfrontowane z piśmiennictwem naukowym i wzbogacają stan wiedzy z tego zakresu.

Zawarte w powyższej ocenie pracy uwagi i zalecenia nie umniejszają znaczenia oraz wartości dysertacji, stanowią jedynie życzliwe wskazówki do dalszego doskonalenia warsztatu naukowego Doktorantki.

W mojej opinii praca wnosi nowe wartości naukowo-poznawcze i dostarcza niezwykle cennych informacji i wskazówek dla hodowców bydła mlecznego, które w przyszłości mogą być wykorzystane w odchowcie cieląt.

WNIOSEK KOŃCOWY

Biorąc pod uwagę wartość poznawczą, duże walory naukowe, a przede wszystkim potencjalne efekty aplikacyjne uzyskanych wyników, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska zatytułowana „Wpływ promieniowania elektromagnetycznego bliskiej podczerwieni (NIR) na wybrane parametry morfologiczne krwi cieląt ze szczególnym uwzględnieniem parametrów erytrocytarnych” odpowiada

wymaganiom stawianym rozprawom doktorskim zgodnie z Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (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 z obowiązującymi 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.

W związku z tym, z pełnym przekonaniem przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Pani mgr inż. Marty Kaliciak do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

25 maja 2019 roku



dr hab. inż. Małgorzata Szewczuk