

Prof. dr hab. Anna Wójcik
Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska,
Wydział Bioinżynierii Zwierząt,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Vitaliia Demeshkanta pt.: Morfologiczna i funkcjonalna analiza ultrastruktury szkliwa zębów i jego skład chemiczny u koni

Praca doktorska została wykonana w Instytucie Biologii Środowiskowej Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu pod kierunkiem prof. dr hab. Leonida Rekovtsa oraz promotora pomocniczego dr hab. inż. Przemysława Cwynara

Ocenę rozprawy wykonano na zlecenie dr hab. inż. Heliodora Wierzbickiego, prof. uczelni, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu zgodnie z wymogami art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017r., poz. 1789 – t.j.) w związku z art. 179 ust. 1 oraz art. 179 ust.3 pkt 1 i 2b Ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r. poz. 1669). Przedstawiona do oceny praca spełnia warunki formalne określone w.w. Ustawie.

Przedstawiona do oceny praca, wraz z tabelami, rycinami, wykazem piśmiennictwa oraz streszczeniami w języku polskim i angielskim licząca ogółem 193 strony maszynopisu, została podzielona na dziewięć rozdziałów oraz na załączniki. Układ pracy jest poprawny, typowy dla prac badawczych na stopień naukowy i z formalnego punktu widzenia nie budzi zastrzeżeń.

Ewolucja koniowatych, pomimo że jest dość dobrze poznana, to wciąż jest przedmiotem badań. W ten nurt wpisują się również badania mgr inż. Vitaliia Demeshkanta. Wykorzystanie w Jego badaniach, najnowszych technik analizy ultrastruktury szkliwa zębów i jego składu chemicznego przyczynia się do prześledzenia procesu ewolucyjnego i adaptacyjnego koni oraz poszerza widzę na temat zmian jakie zachodzą w budowie szkliwa zębów u koni w zależności od warunków środowiskowych.

W rozdziale pierwszym zatytułowanym „Wstęp” Doktorant ogólnie przybliżył problem badawczy i wskazał, że stan wiedzy dotyczącej analizy porównawczej ultrastruktury szkliwa

zębów u koni wybranych grup z okresu plejstocenu, czasów historycznych (holocen) i współczesnych ras koni jest niewystarczający, w szczególności zaś w kontekście wpływu warunków naturalnych i hodowlanych na zróżnicowanie ultrastruktury i składu chemicznego szkliwa u koni. W rozdziale tym zawarto hipotezy badawcze, cel pracy oraz szczegółowe cele badawcze.

Celem przedstawionej do oceny pracy była analiza ultrastruktury i składu chemicznego szkliwa zębów u wybranych grup koni oraz poznanie zależności między strukturą i funkcją zębów a warunkami środowiskowymi. Doktorant postawił dwie hipotezy badawcze:

1. struktura szkliwa i jego składniki (pierwiastki i ich połączenia) u wybranych grup zwierząt mogą mieć zróżnicowanie taksonomiczne, ontogenetyczne i ewolucyjne,
2. ze zmianami warunków pokarmowych, szkliwo, jego składniki i zęby, jako najbardziej funkcjonalnie aktywne struktury, mogą zachować odpowiednią zmienność i zależność od warunków środowiskowych, chowu i hodowli, utrzymując tym samym niezbędny poziom dobrostanu.

Rozdział „Przegląd literatury” został podzielony na pięć podrozdziałów, w których mgr inż. Vitalii Demeshkant w oparciu o skrupulatnie dobraną literaturę przedstawił zakres tematyczny pracy. Autor bardzo szczegółowo przedstawił dane ewolucyjne i paleontologiczne dotyczące ewolucji koni i ich zębów, morfologię i funkcję zębów oraz współczesną stomatologię koni z uwzględnieniem opieki stomatologicznej, leczenia i profilaktyki chorób zębów u koni. Ostatni podrozdział dotyczący badanych form i lokalizacji, powinien znaleźć się w rozdziale materiał i metody jako opis materiału badawczego. Kolejny rozdział pracy dotyczył ogólnej charakterystyki morfologii zębów i szkliwa u ssaków z uwzględnieniem koni. Tak obszerne przedstawienie zakresu badań w oparciu o literaturę, świadczy o prawidłowym przygotowaniu Autora do pracy badawczej i o dużym zaangażowaniu własnym przy bardzo szczegółowych studiach literatury przedmiotu.

W rozdziale „Materiał i metody” Autor scharakteryzował materiał badawczy, który stanowiły zęby wybranych taksonów i ras koni współczesnych, pochodzących z różnych stanowisk i z różnego okresu geologicznego. W celu bardziej dokładnego porównania otrzymanych danych opracowań morfologicznych, Doktorant podzielił materiał badawczy na dwie grupy: małe konie grupy „tarpan” i duże konie grupy „caballus”. Aby zbadać ultrastrukturę szkliwa zębów, Doktorant zmodyfikował metody przygotowania zębów do analizy skaningowej. Następnie przygotowane próbki szkliwa zostały przebadane pod mikroskopem skaningowym z wykorzystaniem programu ImageJ (wersja 1.53a). Sprawdzone również skład chemiczny szkliwa stosując mikroskop skaningowy EVO 15 LS wyposażony w urządzenie do mikroanalizy

pierwiastkowej na poziomie elektronowym Quantax 200 Esprit 1.8.2 EDS X-ray (Bruker). Informacja o wykorzystaniu mikroskopu skaningowego EVO 15 LS pojawia się w tym rozdziale dwukrotnie: w podrozdziale 3.2 „Metody skaningowe” (str. 51) i w rozdziale 3.3 „Metody badań składu chemicznego zębów” (str. 52), co wprowadza czytelnika w błąd. Ponieważ podrozdział 3.2 opisuje metody przygotowania zębów do analizy ultrastruktury szkliwa z wykorzystaniem określonego rodzaju skaningowego mikroskopu elektronowego oraz opis cech morfologicznych i kryteria podziału tych cech, to sugeruję przy przygotowywaniu pracy do druku, aby informacje o wykorzystaniu do badań składu chemicznego szkliwa mikroskopu skaningowego EVO 15 LS, zostawić tylko w podrozdziale 3.3. Proponuję również zmienić nazwę podrozdziału 3.2 na: „Analiza ultrastruktury szkliwa zębów”, natomiast podrozdziału 3.3 na: „Analiza składu chemicznego zębów”.

Doktorant w ostatnim akapicie podrozdziału 3.2. (str. 52) odnosi się do analizy statystycznej cyt.: „Wskaźniki elementów strukturalnych szkliwa (grubość pryzmatów IPM i PE) zmierzono w μm i opracowano za pomocą oprogramowania ImageJ (ImageJ Ops), zgodnie z metodyką przyjętą przez Schneider i in. (2012), następnie obliczono średnią bezwzględną i poddano analizie statystycznej. Uzyskane dane przedstawiono w tabelach oraz w formie wykresów. Aby wykryć różnice międzygatunkowe na podstawie IPM i PE, wyżej wymienione parametry (K) potraktowano łącznie jako jeden parametr. Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu Statistica 13 (Statsoft Inc.). Istotność statystyczną ustalono na $p \leq 0,05$ dla każdej zmiennej”.

Ponieważ opis analizy statystycznej jest dość lakoniczny proszę o uzupełnienie informacji, jaki test wykorzystano do oceny normalności rozkładu badanych cech oraz jakie konkretnie wykonano analizy statystyczne. Czy analiza statystyczna została wykonana również w przypadku analizy składu chemicznego szkliwa zębów?

Pomimo wcześniejszych uwag, uważam, że wykonanie badań wymagało od Doktoranta bardzo dużego zaangażowania i wkładu pracy, współpracy oraz bardzo dobrej znajomości technik i metod analizy skaningowej.

W rozdziale „Wyniki badań empirycznych” Autor w sposób merytoryczny przedstawił uzyskane wyniki badań w oparciu o przeprowadzone analizy. Wyniki przedstawił w 6 tabelach, 45 rycinach i w 29 załącznikach. Rozdział ten został podzielony na trzy podrozdziały, które odnoszą się do pierwszych dwóch szczegółowych celów badawczych.

Doktorant w badaniach nad szkliwem zębów u małych koniowatych zauważył podobieństwa i różnice struktury mające charakter taksonomiczny oraz, że występują zmiany ewolucyjne. Wykonane analizy pozwoliły Mu na zidentyfikowanie wspólnych cech morfologii szkliwa tarpanów z różnych stanowisk, a także u konika polskiego i konia Przewalskiego. Jako

materiał porównawczy Doktorant wykorzystał szkliwo zębów bliskiego, ale filogenetycznie nieco oddalonego dzikiego osła europejskiego. Na tej podstawie wykazał, że tarpan, konik polski i koń Przewalskiego tworzą jedną grupę (klaster) i wyraźnie odróżniają się od dzikiego osła europejskiego oraz, że koń Przewalskiego ma nieco inną strukturę szkliwa, w porównaniu do tarpanów i konika polskiego. Kolejną grupą badawczą była grupa koni „caballus”, w obrębie których również cechy morfologiczne wskazują na podobieństwa i różnice w ultrastrukturze szkliwa między badanymi grupami koni.

Doktorant na podstawie danych o strukturze szkliwa zębów przeprowadził analizę skupień, która wskazuje na pokrewieństwo badanych grup koni przy jednoczesnym wyróżnieniu *E. hydruntinus* w grupie „tarpan” i *E. latipes* w grupie „caballus”.

Mgr inż. Vitalii Demeshkant dokonał również porównania zawartości wybranych pierwiastków w szkliwie zębów koni z gatunków wymarłych i koni współczesnych. Wyniki wskazują, że pomimo tego, iż szkliwo jest stosunkowo stabilną strukturą chemiczną, to występują różnice pomiędzy badanymi grupami. Różnice dotyczyły przeważnie makroelementów a w znacznie mniejszym stopniu mikroelementów. Wpływ na to mogły mieć różne warunki środowiskowe w jakich żyły konie.

Bardzo ważnym elementem badań Doktoranta było przeanalizowanie budowy szkliwa zębów u koni w kontekście funkcjonalnej roli na etapie pobierania i rozdrabniania pokarmu (rozdział 5). Szkliwo występuje jako integralna część zęba i całego systemu pokarmowego, a funkcjonalnie przyjmuje wielkie obciążenie podczas pobierania pokarmu i jego rozdrabniania. Badania Doktoranta wykazały, że w procesie ewolucyjnym u każdej grupy badanych koni występował specyficzny typ szkliwa, który w najlepszym stopniu był przystosowany do pokarmu oraz trybu życia zwierząt w danej epoce. Ponadto ustalił, że występuje zależność między strukturą warstw a funkcjonalnością zębów i szkliwa w całości, co zależy od pokarmu koni i warunków ich utrzymania. Zwrócił również uwagę na to, że mechaniczny skład pokarmu, głównie jego twardość, jest istotnym czynnikiem zmienności układu krystalicznego szkliwa oraz jego odporności na nacisk fizyczny (rujnowanie szkliwa i zębów). Badania Doktoranta wskazują, że teoretyczna wiedza o strukturze i funkcji szkliwa zębów koni w warunkach naturalnych w pełni zasługuje na jej wykorzystanie w praktyce chowu i hodowli koni oraz odpowiednim doborze pasz, które będą wzmacniały szkliwo przez jego zdolności adaptacyjne. Wyniki badań Doktoranta wskazują wyraźnie, że struktura szkliwa zębów, która może różnić się w zależności od taksonu, rasy, odmiany oraz pokarmu, do pewnego stopnia może być również odzwierciedleniem dobrostanu zwierząt.

Kolejny rozdział Autor nazwał „Podsumowanie i dyskusja” (rozdział 6.), jednak na podstawie zawartości tego rozdziału wynika, że jest to raczej podsumowanie badań. W rozdziale 4 i 5, kiedy omawiane były wyniki, Doktorant przeprowadzał dyskusję i odnosił swoje wyniki do wyników innych autorów. W tym miejscu chciałabym odnieść się jeszcze do nazwy podrozdziału 4.2 „Osobliwości struktury szkliwa u wybranych ras dużych koni grupy „caballus”. Tytuł ten powinien brzmieć: „Morfologiczna i funkcjonalna charakterystyka szkliwa zębów u wybranych ras dużych koni grupy „caballus”.

Rozdział „Wnioski” jest logicznym efektem uzyskanych w badaniach wyników. Zostały one trafnie ujęte i świadczą o dużej zdolności Autora do syntetycznej analizy uzyskanych wyników na tle dotychczasowych badań.

Wykorzystane w pracy piśmiennictwo obejmuje 257 pozycji literatury, wszystkie zgodne z tematyką pracy.

Z obowiązku recenzenta proszę jeszcze o uszczegółowienie poniższych aspektów pracy:

1. W opisie materiału wymienione zostały rasy koni od których pobrano zęby do analizy szkliwa, ale nie podano od ilu koni danej rasy pobrano zęby.
2. Dlaczego wśród koni współczesnych wybrano konie zimnokrwiste i czy mogą występować różnice w ultrastrukturze szkliwa koni zimnokrwistych i gorącokrwistych?

Inne uwagi do pracy mają raczej charakter redakcyjny i nie umniejszają wartości merytorycznej ocenianej rozprawy:

1. w wykazie piśmiennictwa brak pozycji zacytowanych w tekście, nie pełne dane lub różne lata opublikowania: str. 32: Cieślak i in. 2017, Kamiński i in. 2017, Kosintsev 2013, Kvist i Niskanen 2020; str. 33: Burke i in., 2003; Orlando i in. 2008; str. 38: Lutshaw, 1987; str. 40: MacFadden, 1999; str. 41: Mayra (1980), Kimura (1983); str. 72: Dixon i in., 2020; str. 73: Jordana in. 2014; str. 123: Endenburg (2021); str. 126: Kempson 2003, Rook 2019, Rochais (2018); str. 127: Vorobjev i Paskievich (2019), Jasyńska 2019b, Jaworski i Siemieniuch (2019); str. 128: Cipriano-Salazar i in. (2019), Dixon i Dacre (2005); str. 130: Kilica (1997a, b), Łuszczynski i in. (2011a); str. 134: Demeshkant i Rekovets (2021);
2. w tekście brak pracy: Council, F. A. W. (2009). *Farm animal welfare in Great Britain: Past, present and future*. Farm Animal Welfare Council;
3. prace zamieszczone pod pozycjami: 112, 179 i 238 jako prace wieloautorskie powinny mieć wymienionych wszystkich autorów;
4. w tekście pracy występują również drobne błędy stylistyczne, które mam nadzieję, Autor skoryguje przy przygotowaniu pracy do druku.

Wniosek końcowy

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Vitaliia Demeshkanta reprezentuje bardzo wysoki poziom merytoryczny oraz stanowi oryginalne i nowatorskie rozwiązanie problemu naukowego jakim jest analiza ultrastruktury i składu chemicznego szkliwa zębów u wybranych grup koni oraz poznanie zależności między strukturą i funkcją zębów a warunkami środowiskowymi. Rozprawa wnosi duży wkład w rozwój nauk rolniczych w dyscyplinie naukowej zootechnika i rybactwo oraz posiada znaczenie aplikacyjne. Autor w jasny sposób sformułował hipotezy badawcze i cele badań naukowych, które w moim przekonaniu osiągnął. Wykonanie badań wymagało od Doktoranta bardzo dużego zaangażowania i wkładu pracy, współpracy oraz bardzo dobrej znajomości technik i metod analizy skaningowej. Doktorant wykazał się umiejętnością opracowania uzyskanego materiału oraz bardzo dobrym przedstawieniem i omówieniem uzyskanych wyników. W pracy zgromadzono i cytowano wartościową literaturę przedmiotu. Pan mgr inż. Vitalii Demeshkant wykazał się bardzo dobrą orientacją w analizowanych zagadnieniach. Zostały więc spełnione wymogi Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. -1789) w zw. z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r. poz.1669).

Mając powyższe na uwadze przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Pana mgr inż. Vitaliia Demeshkanta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę znaczenie przeprowadzonych badań, koncepcje badawcze oraz wysoki poziom rozprawy doktorskiej, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Vitaliia Demeshkanta.



Olsztyn, 2022-02-28