

Wrocław, 18 lutego 2022 r.

Prof. dr hab. Artur Kowalczyk
Zakład Hodowli Drobiu
Instytut Hodowli Zwierząt
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Ocena rozprawy doktorskiej

Pani mgr inż. Agaty Szczerby pt. „Badania nad długotrwałą hodowlą pierwotnych komórek płciowych kury”, wykonanej
w Politechnice Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich,
pod kierunkiem prof. dr. hab. Marka Bednarczyka
oraz promotora pomocniczego dr. Takashi Kuwany, profesora wizytującego

Podstawą opiniowanej rozprawy doktorskiej są spójne tematycznie dwie oryginalne prace naukowe ujęte przez Doktorantkę pod w/w tytułem, opublikowane w czasopismach znajdujących się w wykazie czasopism naukowych Ministerstwa Edukacji i Nauki:

- A. Szczerba A., Kuwana T., Bednarczyk M. Concentration and total number of circulating primordial germ cells in Green-legged Partridge-like chicken embryos. *Poultry Science*, 2021, 100(1), 319-324, DOI - <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.016>
- B. Szczerba A. Kuwana T., Paradowska M., Bednarczyk M. In vitro culture of chicken circulating and gonadal primordial germ cells on a somatic feeder layer of avian origin. *Animals*, 2020, 10, 1769, DOI - <https://doi.org/10.3390/ani10101769>

Uzupełnieniem w/w publikacji jest zgłoszenie patentowe autorstwa: Szczerba A., Kuwana T., Bednarczyk M. pt. ”Sposób identyfikacji żywych, ptasich pierwotnych komórek płciowych” (P.434242).

Artykuły stanowiące cykl prac będących przedmiotem rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w latach 2020-2021. Merytoryczny udział Doktorantki w powstaniu prac uznaję jako wiodący, wynoszący w obu przypadkach 60%, polegał on na współudziale w opracowaniu

koncepcji i metodyki badań, realizacji doświadczenia, analizie wyników, współredakcji prac oraz korespondencji z redakcją czasopisma. Wyszczególnione publikacje zostały opublikowane w międzynarodowych czasopismach posiadających wskaźnik oddziaływania (IF), łączna wartość IF tych prac wynosi 4,982, a liczba punktów MEiN = 240.

Zamieszczone w omawianych publikacjach wyniki, połączono polskojęzycznym tekstem zawierającym rozdziały: „Wstęp”, „Wykaz artykułów naukowych stanowiących cykl publikacji rozprawy doktorskiej”, „Uzasadnienie spójności tematycznej cyklu publikacji rozprawy doktorskiej” z podrozdziałami: „Wykaz skrótów, symboli i jednostek”; „Hipoteza badawcza, cel i zakres badań”; „Materiał i metody badań”; „Wyniki”; „Dyskusja”; „Podsumowanie” oraz „Literatura”, następnie rozdziały streszczenie (w języku polskim i angielskim) i „Załączniki” (kopie artykułów oraz oświadczenia autora rozprawy doktorskiej i współautorów artykułów).

W rozdziale „Wstęp” Doktorantka przybliży czytelnikowi powody zaliczenia kury domowej do grupy zwierząt modelowych w różnych dziedzinach nauki. Opisuje rolę pierwotnych komórek płciowych (ang. Primordial Germ Cells - PGCs) w rozwoju zarodkowym, miejsce ich powstawania oraz budowę morfologiczną. Wylicza obecnie stosowane metody identyfikacji pierwotnych komórek płciowych, zwracając uwagę na zalety opisywanych metod ale także na wady, m.in. brak przeżywalności komórek i w konsekwencji uniemożliwienie ich dalszego wykorzystania do badań. Wskazuje, że niewielka liczebność migrujących PGCs podczas rozwoju zarodkowego, jest dużym ograniczeniem w badaniach epigenetycznych oraz dotyczących reprodukcji kręgowców. W kolejnej części rozdziału Autorka wskazuje na możliwość wykorzystania PGCs w ochronie gatunków i ras ptaków zagrożonych wyginięciem, stosując metody *ex situ in vitro*, jako alternatywę do obecnie stosowanych metod ochrony *in situ* oraz *ex situ in vivo*. Tą część pracy uważam za dobrze i przejrzysto napisaną, mam jednak pytanie dotyczące fragmentu wskazującego że „Oocyty i zygoty ptaków są bardzo bogate w lipidy, co utrudnia ich kriokonserwację.” Co jest powodem, że duży udział lipidów utrudnia kriokonserwację, a może to rozmiar oocytu jest największą przeszkodą? Proszę również o krótki opis jak pierwotne komórki płciowe mogą być wykorzystane w ochronie zagrożonych wyginięciem gatunków i ras ptaków.

W kolejnym rozdziale Autorka wykazuje spójność tematyczną cyklu publikacji, która w moim przekonaniu jest zachowana.

Hipoteza i cel badań są prawidłowo sformułowane, dobrze korespondują ze wstępem i metodyką badań.

Podrozdział „Materiał i metody badań” jest przedstawiony łącznie dla obu publikacji. Zaproponowany układ tego rozdziału jest uporządkowany. Opis wybranych metod badawczych był już poddany pozytywnej ocenie merytorycznej przez specjalistów, jednakże w związku z postawionym mi zadaniem oceny prac mam dwa pytania. Dlaczego w ocenianej rozprawie nie zostały opisane zastosowane metody statystyczne? Na podstawie analizy wykresów 2-4 zamieszczonych w publikacji (nr 1) można wnioskować, że testowanie statystyczne było wykonane. W drugiej publikacji nie znalazłem informacji dotyczącej ocenianych cech morfologicznych i cytologicznych pierwotnych komórek płciowych, a taka analiza była wykonana, o czym świadczy opis wyników badań.

Podrozdział „Wyniki” również został przedstawiony łącznie dla obu publikacji. Jako najważniejsze należy uznać: ustalenie w okresie 14. stadium rozwoju embrionalnego (wg. Hamburgera i Hamiltona) maksymalnej koncentracji migrujących pierwotnych komórek płciowych na jednostkę objętości (μl) oraz w całym krwioobiegu embrionalnym; przeprowadzenie hodowli gonadalnych oraz migrujących pierwotnych komórek płciowych, które w odniesieniu do komórek świeżo izolowanych nie ulegały morfologicznej zmianie oraz zachowały swoje właściwości migracyjne, co udowodniono wbudowaniem ich do gonad biorcy. Za istotny element wykonanych badań należy również uznać opracowanie i opatentowanie nowej, przyżyciowej metody identyfikacji PGCs, która była wykorzystana w badaniach ocenianej rozprawy doktorskiej.

W podrozdziale „Dyskusja” Doktorantka omawia uzyskane wyniki własne oraz prawidłowo i kompetentnie komentuje je na tle dotychczasowych osiągnięć innych autorów. Sposób prowadzenia dyskusji świadczy o dobrej znajomości poruszanej tematyki. Mam uwagi do fragmentu zdania cyt. „Według Al-Thani i Simkiss (1991) zapłodnione jaja kurcząt rasy Rhode Island Red inkubowane w $37,5^{\circ}\text{C}$, najwyższe stężenie cPGS we krwi embrionalnej wykazały...”. Prawidłowe określenie, które powinno się znaleźć w tym zdaniu to kury, a nie kurczęta, które przecież nie znoszą jaj. Również precyzowanie statusu jaja jako zapłodnione jest niepotrzebne, ponieważ w niezapłodnionych jajach nie będą obecne komórki embrionalne.

Opracowanie kończy podrozdział „Podsumowanie”, które początkowo odnosi się do postawionej hipotezy badawczej, wskazując na jej potwierdzenie. W dalszej części Autorka

formułuje pięć szczegółowych wniosków, które są prawidłowe i znajdują uzasadnienie w wynikach badań.

Problematyka badawcza ocenianej rozprawy doktorskiej ma charakter interdyscyplinarny, posiada wysokie walory poznawcze oraz aplikacyjne. Wnosi znaczący wkład w rozwój nauk zootechnicznych, a w szczególności z zakresu biotechnologii ptaków.

Praca napisana jest poprawnym językiem. Moim zdaniem podrozdziały: „Hipoteza badawcza, cel i zakres badań”; „Materiał i metody badań”; „Wyniki”; „Dyskusja”; „Podsumowanie” oraz „Literatura” powinny zostać podniesione do rangi osobnych rozdziałów.

Przedstawione w recenzji uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej pracy, należy je traktować wyłącznie jako zachętę do stosowania bardziej starannego opisu prowadzonych badań.

Oceniana rozprawa doktorska mgr inż. Agaty Szczerby zatytułowana „Badania nad długotrwałą hodowlą pierwotnych komórek płciowych kury” spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora określone w Ustawie *O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki* z dnia 14 marca 2003 r. (Dz.U. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami), oraz art. 179 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669). W związku z powyższym wnioskuję do Rady naukowej dyscypliny zootechnika i rybactwo Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich o dopuszczenie Panią mgr inż. Agatę Szczerbę do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę szeroki zakres przeprowadzonych badań, które wymagały dużego zaangażowania, umiejętności manualnych oraz wiedzy, a także wysoki poziom naukowy rozprawy doktorskiej, co potwierdzają wysokie wskaźniki biometryczne czasopism naukowych, w których ukazały się artykuły będące podstawą rozprawy doktorskiej, wnioskuję do Rady naukowej dyscypliny zootechnika i rybactwo Politechniki Bydgoskiej o wyróżnienie dysertacji.

