Puławy, 2020-08-06

Dr hab. Grzegorz Tomczyk, profesor Instytutu

Państwowy Instytut Weterynaryjny

- Państwowy Instytut Badawczy

Al. Partyzantów 57

24-100 Puławy

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani Lek. wet. Joanny Kowalczyk

p.t. „Odporność ogólna i lokalna układu rozrodczego indyczek reprodukcyjnych i jej przekazywanie na potomstwo”

Recenzowana rozprawa ma formułę odbiegającą od przyjętego stereotypu, ponieważ Autorka wykorzystała w niej, w miejsce tradycyjnego maszynopisu książki/monografii, wyniki badań opublikowanych cząstkowo w czasopismach naukowych zagranicznych i krajowych. Powyższy scenariusz, coraz powszechniej dzisiaj wykorzystywany a dopuszcza ustawa z 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, art. 13 ust. 2 i 4 (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.), zgodnie z którą może on stanowić podstawę ubiegania się kandydatki o nadanie stopnia naukowego doktora w związku z uchwałą Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 15 maja 2020 roku.

Promotorem pracy jest Prof. dr hab. Andrzej Koncicki, a promotorem pomocniczym dr n. wet. Marcin Śmiałek. Obaj Panowie pracują w Katedrze Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Warmijsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. wet. Joanny Kowalczyk jest spójnym cyklem trzech publikacji (dwie oryginalne i jedna przeglądowa). Wszystkie prace są opublikowane w latach 2016-2020 w recenzowanych czasopismach. Jedna praca jest artykułem przeglądowym opublikowanym w krajowym czasopiśmie weterynaryjnym, natomiast pozostałe dwie to prace oryginalne, opublikowane w anglojęzycznych czasopismach zagranicznych zamieszczonych w bazie JCR. Łączny współczynnik wpływu (IF) prac wchodzących w skład cyklu wynosi 4,214, natomiast sumaryczna punktacja czasopism zgodnie z wykazami MN i SW wynosi 295. We wszystkich trzech publikacjach, w tym w artykule przeglądowym Doktorantka jest pierwszym autorem a biorąc pod uwagę tematykę poszczególnych publikacji, w tym zwłaszcza prac eksperymentalnych można przyjąć, że stanowią one cykl spójny tematycznie, na co zwraca się uwagę w cytowanej Ustawie.

Wykaz prac:

Prace oryginalne (10.2., 10.3.)

10.2. Kowalczyk J., Śmiałek M., Tykałowski B., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A.2019. Field evaluation of maternal antibody transfer from turkey breeder hens. Poult Sci 98(8), 3150-3157.Doi :10.3382/ps/pez126

Punkty MNiSW-**140**. Impact Factor-**2.027**

10.3. Kowalczyk J., Śmiałek M., Tykałowski B., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A. 2020. Research note: Effect of age on distribution of lymphocytes in the oviduct in turkey breeder hens. Poult Sci doi: 10.1016/j.psj.2020.03.005

Punkty MNiSW-**140**. Impact Factor-**2.027**

Praca przeglądowa (10.1.)

10.1. Kowalczyk J., Śmiałek M., Tykałowski B., Koncicki A. 2016. Wybrane zagadnienia z immunologii układu rozrodczego kury domowej. Med. Weter 72(11), 671-676. Doi: 10.21521/mw.5590.

Punkty MNiSW-**15**. Impact Factor-**0.16**

Sumaryczna liczba punktów MNiSW- 295

Sumaryczny Impact Factor – 4,214

Brak stałej i jednoznacznej koleracji pomiędzy intensywnością nieśności nioski a poziomem przeciwciał przekazywanych potomstwu poprzez jaja świadczy, że dotychczasowy pogląd producentów piskląt komercyjnych jakoby „najlepsze pisklęta" to te z początku i do szczytu nieśności stopniowo ulega istotnej korekcie. Dodatkowo transfer swoistych przeciwciał uzależniony może być wyraźnie od aktualnego statusu zdrowia nioski i jej narażenia na antygen w zależności od jego rodzaju. Jest to zróżnicowane co do patogenów wirusowych APV (33,2) i ND (31,9%) i upośledzony (45%) dla antygenów bakteryjnych. Może to oznaczać, że gdy w czasie nieśności dojdzie do zakażenia nioski nawet patogenami nie absolutnymi mogą one rzutować na ogólny poziom odporności matczynej u potomstwa. Równocześnie rozmieszczenie lokalnej odporności komórkowej w postaci określonych subpopulacji limfocytów $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$ oraz B (IgM^+) na błonie śluzowej jajowodu niemal na całym odcinku tego narządu wskazuje na znaczącą funkcję tego narządu w procesie budowy jaja pełnowartościowego pod względem statusu odporności dla potomstwa. Może mieć to istotne znaczenie w sytuacji wniknięcia do tego narządu (drogą wstępująca) patogennych drobnoustrojów np. w trakcie zbiegu inseminacji niosek czy też drogą płciową (nasienie samców).

Przeglądowa praca Autorki doktoratu zamieszczona w Medycynie Weterynaryjnej zawiera logiczny przegląd i bardzo dokładnie omówienie zagadnień związanych z

funkcjonalnością układu rozrodczego w powiązaniu z funkcja układu odpornościowego u kur w tym szczególnie z omówieniem odpornościowego charakteru funkcji błony śluzowej jajowodu jako narządu wpływającego na jakość potomstwa uzyskiwanego od nioski pod względem jego zdrowotności.

Nieliczne dotychczas badania dotyczące zdrowotności piskląt wstawianych do tuczu wykazują bardzo istotną rolę lokalnych mechanizmów odporności (humuralnej i komórkowej) w obrębie jajowodu i układu rozrodczego nioski w różnym stanie fizjologicznym i funkcjonalnym nioski a tym samym wpływem na jakość zdrowotną potomstwa.

Koleracje w zakresie poziomu swoistych przeciwciał u niosek a ich poziomem przekazanym do jaj a następnie poziomem u zarodka i pisklęcia uznawana jest w ogólnym stanie wiedzy jako związane z wiekiem nioski. Badania takie wykonywano głównie u kur niosek. Nie badano tych zależności u indyczek, które w odróżnieniu do kur wchodzą nieco później w nieśność i trwa ona dłużej. Również z tego punktu widzenia badania wykonane przez Doktorantkę mają dużą przydatność dla praktyki szczególnie w projektowaniu stosownej immunoprofilaktyki swoistej i nieswoistej.

Wykorzystując zawarte dane w publikacjach składających się na cykl Doktoratka przygotowała Pracę doktorską w skróconej wersji odtwarzając tradycyjny układ pracy doktorskiej. Wyeksponowane zostały zatem rozdziały: wstęp, cel pracy, metodyka badań zawartą w rozdziale Materiał i metody, wyniki ich omówienie wyników w dyskusji, wnioski, wykaz piśmiennictwa a następnie streszczenie w polskim i abstract w języku angielskim. Dodatkowo zamieściła kopie prac(publikacji) wchodzących w skład rozprawy oraz oświadczenia współautorów. Rozprawę poprzedza wykaz skrótów użytych w tekście (str 5-6), co znacznie ułatwia późniejsze czytanie. Tu nasuwa się mała uwaga, że pomimo niewątpliwych korzyści jakie wnosi taki wykaz, z niektórych rozwinięć skrótów można było zrezygnować z uwagi na powszechność ich stosowania, np. PBS, ELISA.

Wstęp został napisany bardzo logicznie i bez zbędnie rozbudowanych informacji a wprowadza on czytającego w tematykę funkcji układu immunologicznego u ptaków jego odpowiedzi nieswoistej i swoistości w odniesieniu do patogenów a także co do różnego poziomu tej odporności związanej z wiekiem nioski, transferu tej odporności i poziomu przekazywanemu pisklęciu. Doktorantka opisuje m.in. dwuetapowość w zakresie takiego transferu z surowicy nioski do treści żółtka a następnie proces embriogenezy w którym immunoglobuliny przedostają się do rozwijającego się układu krążenia pisklęcia a następnie także jakże istotnego dla pisklęcia transferu przeciwciał do płynu owodniowego zarodka i do jego przewodu pokarmowego, chroniąc go w postaci odpowiedzi humuralnej w pierwszych dobach jego życia. Doktorantka omawia także rolę i poziomy poszczególnych frakcji przeciwciał IgA, IgM i charakterystycznych dla ptaków IgY. Dodatkowo w opisie Autorka podnosi rolę odpowiedzi humuralnej w pierwszych tygodniach życia piskląt jako protekcji przeciwwirusowej oraz bakteryjnej, wobec patogenów znajdujących się w środowisku bytowania ptaków jako jej podstawowej funkcji modelowanej poprzez prowadzone u niosek szczepienia profilaktyczne niwelujące już zamieralność zarodków w czasie lęgu (jak np. wywołanej przez patogeny doskonale namnażające się w żółtku w tym mykoplazmy-MG,MS MM). Eksponuje również fakt ,że dotychczas większość badań nad strukturą i funkcją układu odpornościowego u ptaków wykonano na modelu doświadczalnym kury i ewentualnymi różnicami rasowymi kur, natomiast niewiele jest wiadomym w tym w zakresie u indyków jak również to, że większość wcześniejszych prac wykonano z wykorzystaniem jedynie metod histologicznych oraz immunochemicznych.

Doktorantka planując swoje badania na nioskach indyczych sprecyzowała 3 cele. Obejmowały one określenie wpływu wieku nioski oraz okresu reprodukcji (nieśności) na poziomy przeciwciał matczynych przekazywanych potomstwu, także w stosunku do sytuacji zakażenia niosek wybranymi patogenami. Następnym celem była ocena koleracji pomiędzy poziomem odporności nioski (poziom przeciwciał w surowicy niosek) a ich poziomem w treści jaj wylęgowych i poziomem w surowicy krwi u piskląt oraz trzeci cel obejmował precyzyjne określenie wieku niosek indyczych i okresu nieśności w jakim się znajdowały na kształtowanie się struktury układu immunologicznego w jajowodzie. Realizacji poszczególnych celów odpowiadają wyniki badań zawarte w pracach eksperymentalnych oznaczonych 10.2., 10.3..

Ważnym elementem recenzowanej rozprawy doktorskiej był wybór modelu zwierzęcego i dość długi czasookres próbkobrania w czasie prowadzonych doświadczeń na indyczkach nioskach. Zasadność wyboru dokonanego przez Doktorantki można uzasadnić m.in. znacznie dłuższym okresem nieśności u indyczek niż u kur, powszechnym stosowaniem inseminacji w reprodukcji u indyków co może warunkować nie zamierzone infekcje wstępujące układu rozrodczego u niosek, szczególnie zakażeń bakteryjnych np. mykoplazmami i rzutować na wyniki lęgów i na stan zdrowotny uzyskiwanego potomstwa. Badania wykonano na indyczkach rasy Hybrid XL pozyskanych z komercyjnej fermy reprodukcyjnej w wieku od 32 do 56 tygodni życia, zgodnie z Uchwałą Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Olsztynie (Nr 23/2016). Na ptakach zaplanowano dwa doświadczenia a próbki pobierano w czasie przebiegu okresu nieśności w pięciu terminach (początek nieśności –I pobranie/32 tydzień życia, szczyt/38 tyg, późnej nieśności tj. w 44tyg życia ptaków oraz w dwu terminach w 50 i 56 tygodniu pod koniec nieśności (ostatnie próbkobranie). W trakcie dwu dobrze zaplanowanych doświadczeń Doktorantka badała wpierw proces przekazywania odporności matczynej na potomstwo poprzez jaja wylęgowe określając status odporności swoistej niosek w powyżej wymienionych okresach/terminach w kierunku czterech najważniejszych patogenów w patologii indyków a także poziomy przeciwciał zawartych a jajach wylęgowych pochodzących od badanych niosek i poziomy przeciwciał u jednodniowych piskląt wylężonych z jaj od niosek doświadczalnych. W kolejnym doświadczeniu wykonała badania struktury układu immonologicznego na terenie jajowodu niosek będących w trakcie reprodukcji (w nieśności). To drugie doświadczenie obejmowało badania wykonane na 25 indyczkach, które w tym celu poddawano eutanazji po pięć sztuk w każdym z pięciu wskazanych już powyżej terminach. Pozwoliło to Autorce pozyskać tkanki i narządy do bardzo szczegółowych dalszych analiz uwzględniając poszczególne odcinki układu rozrodczego/jajowodu nioski w których to odcinkach tworzone są poszczególne frakcje jaj wylęgowych a funkcja aktywności sekrecyjnej błony śluzowej jajowodu w zakresie odporności lokalnej tego narządu była przedmiotem założonych celów badawczych Doktorantki. Pobierała także próbki śledziony niosek jako narządu stanowiącego element anatomiczno-funkcjonalny układu odpornościowego ptaków. W celu zrealizowania założeń Autorka zastosowała nowoczesne metody i techniki laboratoryjne, które obejmowały min. wykorzystanie technik ELISA i cytometrii przepływowej z wykorzystaniem przeciwciał mono i poliklonalnych wykazujących reaktywność do epitopów indyczych przeciwciał IgY, IgM oraz molekuł powierzchniowych CD4,CD8,i IgM komórek układu immunologicznego. Szeroko zakrojone badania obejmowały ekstrakcję przeciwciał z jaj wylęgowych (z białka i z żółtka), izolację komórek mononuklearnych z krwi, ze śledziony i z błony śluzowej jajowodu a w kolejnych badaniach dokonała oznaczeń ogólnego poziomu przeciwciał klasy IGY i IgM, przeciwciał swoistych dla wirusów APV i ND oraz bakterii ORT i PM oraz oznaczenia liczby komórek T CD4 i CD8 i komórek B IgM^{+} we krwi, śledzionie i próbkach blony śluzowej wykorzystując technikę cytometryczną. Akwizycję danych uzyskanych w tych ostatnich

badaniach wykonała w oparciu o programy FACS Diva Sofware 6.1.3. (Becton Dickinson, USA) oraz analizę i immunofenotypowanie komórek z wykorzystaniem programu FlowJo V10 7.5.5 (Tree Star Inc., USA), natomiast tzw. hierarchę bramkowania komórek Autorka przedstawiła na wykresach kropkowych. Z kolei bezwzględną liczbę komórek BLK z danej populacji limfocytów wykonała w oparciu o analizę dwu platformową i wykorzystując doświadczenie w tym zakresie jakie już uprzednio posiadała Katedra Chorób Ptaków. Powyższe analizy pozwoliły Doktorantce na możliwość przedstawienia wyników jako średnia BLK $CD4^+$, $CD8^+$ IgM dla próbek błony śluzowej z poszczególnych odcinków jajowodu oraz w jako odsetek poszczególnych subpopulacji komórek we krwi i w śledzionie. Należy dodać ,że do analizy statystycznej Doktorantka zastosowała uznawane za właściwe metody statystyczne.

Przeprowadzone badania wskazują na istotną rolę układu rozrodczego indyczek w kształtowaniu odporności u potomstwa od nich pochodzącego. Na podstawie wyników uzyskanych w doświadczeniu pierwszym, które Autorka przedstawiła w tabeli 2 i na rycinie 5 stwierdzono, że średnie poziomy przeciwciał klasy IgY i IgM u niosek i u piskląt nie są statystycznie istotne w kolejnych okresach próbkobrania (średni poziom przeciwciał IgY w trakcie całego doświadczenia wynosił 22,04 +- 10,29 mg /ml). Z kolei statystycznie istotnie wyższy był poziom przeciwciał w żółtku jaja w pobraniach 3,4 i 5 w porównaniu do początku nieśności (pobranie 1) odpowiednio P=0,039, P=0,008,P = 0,0001 oraz w pobraniu 5 w stosunku do drugiego (P=0,0011). Równocześnie nie wykrywano przeciwciał (poziomy poniżej progu detekcji) w białku jaja co może wskazywać na najistotniejszą funkcję żółtka jaj jako źródła tych przeciwciał dla przyszłego potomstwa. Z tych danych wynika, że poziom p-ciał w surowicy niosek był niższy w okresie szczytu nieśności a dalej zwiększał się wraz z niej obniżaniem się. Nie stwierdzono istotnych różnic statystycznych w poziomie przeciwciał IgM w surowicy niosek, białku jaj a także ich brak w żółtku jaja. Uzyskane przez Autorkę wyniki w zakresie transferu przeciwciał matczynych IgY do jaj w poszczególnych okresach nieśności w ujęciu procentowym wskazują, że średni transfer z nioski do żółtka jaj wynosi 59,5 %, następnie z żółtka do pisklęcia 57,3 % i z znacznie niższym do pisklęcia (tylko 31,4 %). W tabeli 3 przedstawiono wyniki średnich mian dla swoistych przeciwciał u niosek, w żółtku jaj i u piskląt w poszczególnych okresach próbkobrania. W zakresie swoistych dla APV mian przeciwciał wykazano statystycznie istotne wyższe miano w pobraniu 4 niż w pobraniach 1,2,3 natomiast nie wykazano żadnych różnic pomiędzy mianem w żółtku i w surowicy piskląt. Podobnie nie było różnic pomiędzy surowicą niosek, żółtkiem i pisklętami (w surowicy) w zakresie swoistych przeciwciał dla ND, nie było też różnic w zakresie przeciwciał swoistych dla PM w żadnym terminie a w odniesieniu do ORT istotne statystycznie okazało się pobranie 5 w stosunku do drugiego (P=0,025) w surowicy piskląt ale nie dla niosek i żółtka jaja. Wyniki jakie przedstawiono w tabeli 4 i na rycinach 8,9 i 10 wynika, że średni transfer przeciwciał swoistych z nioski do pisklęcia i do żółtka jaj oraz z żółtka do surowicy piskląt był generalnie zróżnicowany i zależy od antygenu jaki użyto do szczepienia niosek. Wykazano jednak, że im wyższy był poziom przeciwciał u nioski tym wyższy był transfer do pisklęcia *via* żółtko jaja. Bardzo interesujące wyniki Doktorantka uzyskała w trakcie realizacji doświadczenia drugiego. Procentowy udział subpopulacji komórek B i T w próbkach krwi niosek i w śledzionie w pięciu różnych terminach zawarła na ryc. 11-tej obejmującej cztery wykresy. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w odsetku komórek CD4 i CD8 we krwi indyczek pomiędzy pobraniami (średni odsetek w trakcie doświadczenia wynosił odpowiednio 11,36 i 3,47 %). Odsetek komórek tzw. podwójnych CD4/CD8 był wyższy w pobraniu 2 w porównaniu z pierwszym. W odniesieniu do komórek IgM^+ odsetek w pobraniu 5-tym przewyższał ich odsetek w pobraniach 1,2,3. W próbkach śledziony odsetek CD4 był niższy w pobraniu 5 w porównaniu do 2,3 i 4-go ale odsetek CD8 w początku doświadczenia był wyższy w porównaniu z terminami 4 i 5. Nie

było różnic w zakresie komórek podwójnych CD4/CD8 a poziom IgM w środkowych terminach (3 i 4) był wyższy niż na początku doświadczenia (1 termin) i na koniec doświadczenia. Wyniki uzyskane z badań zdolności sekrecyjnej w zakresie odporności lokalnej błony śluzowej jajowodu zawarto w tabeli 5. Sekrecja komórek odpornościowych różniła się w poszczególnych odcinka tego narządu. Wyraźnie wyróżnia się w tym zakresie odcinek początkowy tzw. części wielkiej jajowodu nioski indyczej, gdzie stwierdzono istotne statystycznie różnice w BLK subpopulacji lifomfocytów pomiędzy poszczególnymi terminami pobrań w okresie nieśności (np. istotnie wyższa dla CD4 w pobraniu 3-m w stosunku do terminów 1,2,4,5 a także dla CD8 w 3-m pobraniu wyższa niż w 1 i 5-tym) ponadto liczba komórek B IgM była wyższa także w 3 terminie niż w 1,4 i 5-tym. Intersującym jest wynik tych badan dla odcinka środkowego części wielkiej gdzie nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w BLK badanych supopulacji CD4, CD8 i CD4/CD8. Jedynie BLK B IgM w tym odcinku w terminie badania trzecim była wyższa w porównaniu do początku doświadczenia (1 termin pobrania). Z kolei w badaniu końcowego odcinka części wielkiej ponownie stwierdzono statystycznie wyższe poziomy dla CD4 i CD8 oraz dla B IgM w terminie 3 w porównani u do terminów początkowych (1,2) i do terminu 4 co świadczy o wyższej aktywności lokalnej odporności tego odcinka jajowodu w okresie szczytu nieśności u indyczek. Autorka nie potwierdziła różnic w zakresie subpopulacji limfocytów w odcinku cieśni jajowodu i dopiero w tzw. części macicznej jajowodu ponownie stwierdzała różnice i wyższe poziomy komórek T (CD4) i B IgM w okresie szczytu nieśności w porównaniu do początku okresu nieśnego, głównie w środkowej części tego odcinka jajowodu. W części macicznej jajowodu Doktorantka nie stwierdziła natomiast statystycznie istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi pobraniami w zakresie komórek CD8 i CD4/CD8.

Powyższe wyniki badań własnych Autorka konfrontuje umiejętnie w rozdziale Dyskusja trafnie dobierając i porównując dane własne do wyników uzyskanych w zakresie tej tematyki przez innych autorów.

Z przeprowadzonych badań Doktorantka wyciągnęła 5 wniosków. Cztery pierwsze wnioski odnoszą się bezpośrednio do wykonanych badań. Spośród nich wniosek 3 i 4 dotyczy istoty badań własnych, tj. oceny statusu błony śluzowej jajowodu i funkcji tego narządu w zakresie sekrekcji poszczególnych subpopulacji limfocytów T i B oraz wpływu cyklu reprodukcyjnego u nioski na kształtowanie się poszczególnych poziomów i frakcji komórek a także ich poziomu we krwi i w śledzionie nioski. Wniosek 1 odnosi się do poziomu przeciwciał IgY o najdłuższym okresie półtrwania w surowicy nioski wskazując, że jest on najniższy w szczycie nieśności i wzrasta wraz z obniżającym się fizjologicznie poziomem nieśności. Jest to cenna informacja wobec powszechnej opinii o liniowym spadku poziomu przeciwciał wraz z wiekiem nioski. Wniosek ten łączy się równocześnie z wnioskiem drugim gdzie Autorka wykazuje duże zróżnicowanie transferu odporności matczynej na potomstwo przy braku stałej i jednoznacznej koleracji pomiędzy intensywnością nieśności a poziomem przeciwciał matczynych przekazanych pisklęciu co oparła o analizę poziomu przeciwciał anty- APV (pneumowirusy ptaków) i anty- wirusowi rzekomemu pomorowi drobiu oraz anty-bakterie *Ornithobacterium rhinotracheale* i anty-*Pasteurella multocida*. Wniosek piąty choć ma raczej charakter ogólny stanowi istotną informację o wpływu wieku nioski na funkcję jej układu rozrodczego i kształtowaniu się komórkowych mechanizmów obronnych. Generalnie, szczyt nieśności koleruję dodatnio z najwyższą sprawnością układu rozrodczego u niosek.

Przeprowadzona w pracy analiza wykazała, że ogólny status odporności nioski i jej zdolności w kształtowaniu poziomu odporności u potomstwa poprzez funkcję układu rozrodczego jest warunkowany jej wiekiem, co wyraża się wzrastającym poziomem bezwzględnej liczby limfocytów na błonie śluzowej jajowodu zwiększający się do chwili uzyskania szczytu nieśności („nioska wieku młodego") i obniżający się po minięciu szczytu

(„nioska starsza"). Równocześnie poziom ten skolerowany jest z poziomem komórek układu odpornościowego wyrażony ich poziomem w surowicy i śledzionie niosek. Generalnie badania Doktorantki dokumentują naukowo zależność pomiędzy wiekiem niosek indyczych a statusem zdrowotnym i jakością piskląt pod względem odporności i wskazują, że pisklęta pozyskane z jaj wylęgowych od początku nieśności do uzyskania szczytu nieśnego są lepszej jakości niż te z końca nieśności (niższy ogólny status immunologiczny).

Przedstawione dane bibliometryczne świadczą o wysokim poziomie naukowym, a dowód stanowi fakt, że Doktorantka opublikowała wyniki swoich badań w czasopismach o wysokiej randze. Każda z tych prac przed opublikowaniem przeszła bowiem szczegółowy proces weryfikacyjny pod kątem wymagań jakie stawiane są pracom oryginalnym przez zespoły redakcyjne poszczególnych czasopism. Dlatego też zbędnym w mojej opinii jest dokonywanie odrębnej oceny przedstawionego przez Doktorantkę cyklu publikacji. Cykl tych monotematycznych prac spełnia przyjęte w tym zakresie kryteria oceny. Dodatkowo poszczególne publikacje poddawane były niezależnej ocenie merytorycznej jednego lub kilku recenzentów będących przeważnie autorytetami w dziedzinie wiedzy, w której mieszczą się publikowane badania. Przy powyższej formule rozprawy doktorskiej zadaniem Recenzenta jest, aby zgodnie z zapisami odnośnego Rozporządzenia, ocenić indywidualny wkład kandydata do stopnia naukowego w powstanie pracy zbiorowej (publikacji). Najważniejszym wydaję się zatem wykazanie, że oceniany cykl publikacji dowodzi kompetencji Doktorantki i jej dojrzałości do formułowania hipotez i koncepcji badań, umiejętności ich planowania, wyboru modelu doświadczalnego i przeprowadzenia prac doświadczalnych a następnie analizy wyników badań i wyciągania właściwych wniosków. Kryteria powyższe po ich spełnieniu stanowią dowód dojrzałości naukowej jako badacza (pracownika naukowego) i jest to jednym z warunków ubiegania się o stopień naukowy doktora w danej dyscyplinie.

Z uwagi na zbiorowe autorstwo cyklu prac, które stanowią podstawę ubiegania się Doktorantki o nadanie stopnia naukowego doktora, integralną część rozprawy doktorskiej stanowią oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie poszczególnych prac eksperymentalnych. Z załączonych oświadczeń wynika, że w przypadku większości publikacji współautorski udział Doktorantki był większościowy i wiodący. Ten wkład pracy obejmował udział w opracowaniu hipotez, koncepcji prowadzenia doświadczeń na zwierzętach, analizie i interpretacji wyników badań i wnioskowania oraz w pisaniu publikacji. Indywidualny udział pozostałych współautorów, w liczbie 5 zgodnie potwierdza w oświadczeniach powyższe zaangażowanie Doktorantki. Wkład pracy współautorów polegał na współudziale w wykonywaniu analiz laboratoryjnych, interpretacji wyników badań oraz korekcie redakcyjnej tekstu. Analiza i ocena przytoczonych oświadczeń współautorów w powstawanie poszczególnych prac eksperymentalnych upoważniają recenzenta do stwierdzenia, że Doktorantka jest w pełni uprawniona do uznawania prezentowanego cyklu publikacji jako podstawy ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora na podstawie rozprawy naukowej stanowiącej część pracy zbiorowej.

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na drobne uchybienie dotyczące wyliczenia liczby punktów MN i SW oraz Impact Factor. Dotyczy to pracy przeglądowej i wyliczeń zgodnie z jej rokiem publikacji. Tak więc w pracy wykazano 20 punktów MN i SW oraz Impact Factor 0.280 tj. jak w wykazie obowiązującym w roku bieżącym, podczas gdy dane te i liczby te w roku publikacji pracy (2016) kształtowały się na poziomie odpowiednio 15 punktów i 0,16 IF. Należy to uznać za przeoczenie i nie zmienia to w żaden sposób statusu przedstawionej do recenzji pracy. Praca w swej treści została napisana bardzo poprawnym i przystępnym dla czytającego językiem.

Podsumowując uważam, że recenzowana praca doktorska dotyczy interesującego, z poznawczego i praktycznego punktu widzenia, problemu wpływu stanu zdrowia i stanu

fizjologicznego indyczek na status odporności nabywanej przez potomstwo. Analiza i ocena prac eksperymentalnych ujętych w rozprawie a dotyczących funkcji odpornościowej układu rozrodczego niosek indyczych (szczególnie roli i funkcji poszczególnych odcinków jajowodu odpowiedzialnych za tworzenie poszczególnych frakcji jaja wylęgowego) dowodzi oryginalności rozwiązań problemu naukowego, a także ugruntowanej wiedzy Doktorantki w dziedzinie immunologii ptaków. Świadczy także o doskonałym opanowaniu metodyki badań naukowych, zwłaszcza w odniesieniu do badań nad odpornością humuralną i komórkową, co stanowi jeden z atrybutów umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej w dziedzinie tej wiedzy, którą Pani lekarz weterynarii Joanna Kowalczyk reprezentuje. Przedstawiony w powyższej pracy doktorskiej model eksperymentalny w praktyce można zaadaptować do innych gatunków ptaków jak np. użytkowanych wielosezonowo gęsi, kaczek czy strusi o których wiedza z powyższego zakresu jest na chwilę obecną znikoma.

Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska Pani lekarz weterynarii Joanny Kowalczyk p.t. „Odporność ogólna i lokalna układu rozrodczego indyczek reprodukcyjnych i jej przekazywanie na potomstwo”, odpowiada warunkom określonym w artykule 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i przedstawiam Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie wniosek o dopuszczenie Pani Justyny Kowalczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę wyjątkowość problematyki badawczej ujętej w recenzowanej rozprawie doktorskiej, spójność koncepcji badań oraz rzetelność ich realizacji wnoszę do Wysokiej Rady o wyróżnienie ocenianej pracy doktorskiej stosowną nagrodą.

Puławy, 2020-08-06

Dr hab. Grzegorz Tomczyk, prof. Instytutu

Państwowy Instytut Weterynaryjny

- Państwowy Instytut Badawczy

Al. Partyzantów 57

24-100 Puławy