Instytut Rozrodu Zwierząt
i Badań Żywności
Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie
ul. Trylińskiego 18, 10-683 Olsztyn

+48 89 500 32 00
instytut@pan.olsztyn.pl

www.pan.olsztyn.pl

dr Przemysław Gilun
Zespół Fizjologii i Toksykologii
InLife Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

OPINIA PROMOTORA POMOCNICZEGO

o rozprawie doktorskiej Pani mgr inż. Nicoletty Magdaleny Neuman pt. „Właściwości biologiczne najądrzowych plemników poddanych różnym procedurom technologicznym oraz status antyoksydacyjny jąder i najądrzy jelenia europejskiego (Cervus elaphus elaphus)"

Jako promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim Pani mgr inż. Nicoletty Magdaleny Neuman przedstawiam opinię o rozprawie przygotowanej w Katedrze Biochemii i Biotechnologii Zwierząt Wydziału Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, w dyscyplinie zootechnika i rybactwo, w dziedzinie nauk rolniczych.

Dysertacja ma charakter monografii opartej na cyklu trzech powiązanych tematycznie publikacji naukowych poświęconych właściwościom biologicznym plemników najądrzowych jelenia europejskiego oraz statusowi antyoksydacyjnemu tkanek jego układu rozrodczego.

Praca dotyczy oceny wpływu czasu i metody przechowywania (w stanie płynnym oraz w najądrzach w temperaturze 5°C) na właściwości biologiczne plemników najądrzowych jelenia europejskiego (Cervus elaphus elaphus) oraz analizy sezonowych zmian statusu antyoksydacyjnego jąder i najądrzy. Problem ten ma duże znaczenie praktyczne dla rozwoju metod wspomaganego rozrodu jeleniowatych, efektywnego wykorzystania materiału pozyskiwanego *post mortem* oraz ochrony różnorodności genetycznej populacji zwierząt dzikich i fermowych. We wstępie doktorantka przedstawia szeroki i aktualny przegląd literatury dotyczący chowu jeleniowatych, charakterystyki nasienia, metod jego pozyskiwania i konserwacji oraz roli systemu antyoksydacyjnego w utrzymaniu jakości gamet męskich, co pozwala jasno zidentyfikować lukę badawczą.

Hipoteza badawcza zakładała, że najądrzowe plemniki jelenia europejskiego mogą być przechowywane przez kilka dni w najądrzach jako naturalny rezerwuar i w stanie płynnym przy zachowaniu ich właściwości biologicznych oraz stabilnego statusu

antyoksydacyjnego. W hipotezie ujęto także aspekt wpływu sezonu rozrodczego na aktywność enzymów antyoksydacyjnych i ekspresję ich genów w jądrach i najądrzach.

Cele główne i szczegółowe zostały sformułowane jasno i logicznie, a zakres badań obejmuje: ocenę ruchliwości i parametrów ruchu, żywotności, integralności błon plazmatycznych i akrosomalnych, aktywności mitochondriów, integralności DNA, zmian apoptotycznych oraz morfologii plemników, jak również oznaczenia aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), peroksydazy glutationowej (GPx), katalazy (CAT) i peroksydacji lipidów (MDA) w plemnikach i tkankach oraz ocenę ekspresji genów i białek tych enzymów w jądrach i najądrzach.

Materiał badawczy stanowiły jądra z najądrzami pozyskane *post mortem* od byków jelenia europejskiego odstrzelonych w sezonie rykowiska i poza nim, na podstawie porozumienia z Nadleśnictwem Nowe Ramuki, co zapewniło zgodność z przepisami prawa łowieckiego i zasadami etycznymi. Doktorantka zastosowała szeroki zestaw metod, w tym system CASA, barwienia fluorescencyjne, oznaczenia biochemiczne aktywności enzymów antyoksydacyjnych i poziomu MDA oraz zaawansowane techniki biologii molekularnej (Real-Time PCR) i białkowej (Western blot). Jako promotor pomocniczy brałem udział w dopracowaniu części założeń metodologicznych, interpretacji wyników odnoszących się do statusu antyoksydacyjnego tkanek oraz przygotowaniu manuskryptów, natomiast podkreślam wysoką samodzielność doktorantki w realizacji planu badań, w tym w opanowaniu i prowadzeniu złożonych procedur laboratoryjnych.

Uzyskane wyniki wykazały, że czas i metoda przechowywania w istotny sposób wpływają na właściwości biologiczne plemników najądrzowych. Stwierdzono, że plemniki jelenia europejskiego mogą być przechowywane w najądrzach w temperaturze 5°C do 96 godzin, ale ich właściwości biologiczne są lepiej zachowane podczas przechowywania w stanie płynnym w odpowiednio dobranych rozcieńczalnikach. Ma to wyraźne znaczenie aplikacyjne dla optymalizacji procedur pozyskiwania i przechowywania plemników w warunkach terenowych i laboratoryjnych. Analiza statusu antyoksydacyjnego jąder i najądrzy wykazała istotne różnice w aktywności SOD, GPx i CAT oraz ekspresji ich genów w zależności od tkanki i sezonu, co świadczy o dynamicznym dostosowywaniu systemu antyoksydacyjnego układu rozrodczego do wymogów sezonu rozrodczego i zmieniających się warunków środowiskowych.

Podstawę dysertacji stanowi cykl trzech publikacji w czasopismach indeksowanych w JCR: Animal Reproduction Science, Animals oraz International Journal of Molecular Sciences, o łącznym współczynniku IF 10,9 i sumarycznej liczbie 380 punktów MEiN. Świadczy to o wysokiej jakości, nowości i międzynarodowej widoczności prowadzonych badań. Rozprawa została napisana poprawnym językiem naukowym, jest logicznie zbudowana, a dyskusja wyników jest wnikliwa i dobrze osadzona w literaturze.

Przemysław Gilun | Adiunkt | Zespół Fizjologii i Toksykologii
p.gilun@pan.olsztyn.pl | + 48 895003368

In Life

Instytut Rozrodu Zwierząt
i Badań Żywności
Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie
ul. Trylińskiego 18, 10-683 Olsztyn

+48 89 500 32 00
instytut@pan.olsztyn.pl

www.pan.olsztyn.pl

HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Wnioski są spójne z przedstawionym materiałem doświadczalnym i podkreślają zarówno poznawcze, jak i aplikacyjne znaczenie uzyskanych wyników.

Z perspektywy promotora pomocniczego oceniam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Nicoletty Magdaleny Neuman stanowi wartościowe opracowanie naukowe, wnoszące istotny wkład w rozwój wiedzy z zakresu biologii rozrodu jeleniowatych oraz biochemii i fizjologii stresu oksydacyjnego, a uzyskane wyniki mogą znaleźć praktyczne zastosowanie w doskonaleniu technik rozrodu i ochronie zasobów genetycznych.

Podsumowując, stwierdzam, że praca spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, stawiane rozprawom doktorskim.

Przemysław Gilun

.....

(podpis promotora pomocniczego)

Przemysław Gilun | Adiunkt | Zespół Fizjologii i Toksykologii
p.gilun@pan.olsztyn.pl | + 48 895003368