UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU

DYSCYPLINA NAUKOWA ZOOTECHNIKA I RYBACTWO

Wrocław, 25.08.2023 r.

Heliodor Wierzbicki, dr hab.
Katedra Genetyki
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Bieniek pt. „Charakterystyka genetyczna wybranych ras koni z zastosowaniem polimorfizmu sekwencji mikrosatelitarnych i markerów SNP"

1. Tematyka rozprawy

Ocena wartości genetycznej zwierząt gospodarskich oraz skuteczna realizacja programów hodowlanych zależy bezpośrednio od dokładności rodowodów. Błędna identyfikacja zwierząt zmniejsza postęp genetyczny i ogranicza opłacalność produkcji zwierzęcej. Aktualnie stosowane metody kontroli pochodzenia bazują w zasadzie na dwóch rodzajach markerów genetycznych: sekwencjach mikrosatelitarnych (STRs – *Short Tandem Repeats*) i polimorfizmach pojedynczych nukleotydów (SNPs – *Single Nucleotide Polymorphisms*). Istnieje wiele teoretycznych podejść do przypisywania pochodzenia na podstawie DNA, począwszy od prostego wykluczenia, poprzez jednoznaczne i częściowe przypisanie, aż po rekonstrukcję genotypu. Aktualnie najczęściej wykorzystywanymi markerami genetycznymi do identyfikacji osobniczej i kontroli pochodzenia są wciąż mikrosatelity. Chociaż markery mikrosatelitarne zapewniają wysoką dokładność w ustalaniu pokrewieństwa, ciągle istnieją pewne ograniczenia, które wpływają na ich przydatność do tego typu analiz. Markery typu STR, na przykład, są skuteczne w kontroli pochodzenia tych gatunków zwierząt, w których genomach zidentyfikowano wystarczająco dużą ich liczbę, a ich polimorfizm jest wysoki. Jak wiadomo, nie wszystkie gatunku zwierząt spełniają te warunki. Dodatkowo, identyfikacja osobnicza i kontrola pochodzenia z wykorzystaniem markerów mikrosatelitarnych ciągle wymaga znaczących nakładów pracy i niemałych, pomimo postępów

w tym zakresie, wydatków (np. tych związanych z identyfikacją *loci*, projektowaniem starterów, optymalizacją warunków PCR, etc.). Dodatkowym wyzwaniem bywa także interpretacja otrzymanych wyników analiz laboratoryjnych (np. identyfikacja prawdziwych alleli i odseparowanie ich od artefaktów). Wszystko to powoduje, że prowadzone są badania nad technologiami i markerami genetycznymi, które pozbawione byłyby tych ograniczeń i w konsekwencji mogłyby uzupełnić lub zastąpić markery typu STR.

Polimorfizmy pojedynczych nukleotydów coraz częściej zastępują markery mikrosatelitarne w identyfikacji osobniczej i kontroli pochodzenia wielu gatunków zwierząt gospodarskich ze względu na ich dużą liczbę, mniejszą częstość mutacji, lepszą automatyzację procesu genotypowania, łatwość standaryzacji między różnymi laboratoriami oraz efektywność ekonomiczną. Główne ograniczenie markerów SNP wynika z tego, że każdy z nich jest zwykle bialleliczny, a jeśli dostępny DNA jest niskiej jakości, wiarygodność markerów SNP otrzymywanych metodami sekwencjonowania nowej generacji (NGS – *Next Generation Sequencing*) może być mniejsza, niż mikrosatelitów. Dodatkowo, w technologiach bazujących na PCR (PCR-SNP) pojawia się problem wypadających alleli (*Allelic Dropout*). Pomimo tego, że SNP-y są mniej informatywne, lepiej niż sekwencje mikrosatelitarne sprawdzają się w nowych technologiach genotypownia, a badania naukowe i dotychczasowe doświadczenia wskazują, że panel o liczebności od 100 do 200 SNP-ów może zapewnić dokładność kontroli pochodzenia przewyższającą typowy zestaw markerów mikrosatelitarnych. Najczęściej stosowana, a jednocześnie najprostsza metoda testowania rodzicielstwa opiera się na prawdopodobieństwie wykluczenia (PE – *Probablity of Exclusion*). To proste podejście wymaga wysokiej dokładności genotypowania i wysokiej frekwencji rzadszego allelu (MAF – *Minor Allele Frequency*). Dlatego właściwy dobór SNP-ów (z dziesiątek, setek tysięcy a nawet milionów dostępnych), charakteryzujących się odpowiednimi wartościami tych parametrów, ma kluczowe znaczenie dla niezawodności metod testowania pochodzenia zwierząt gospodarskich.

2. Ocena rozprawy

Autorka ocenianej przeze mnie pracy doktorskiej podjęła się określenia polimorfizmu i

oceny efektywności 17 markerów mikrosatelitarnych, rekomendowanych przez Międzynarodowe Towarzystwo Genetyki Zwierząt (ISAG) do kontroli pochodzenia koni, a także przeprowadzenia analizy genetycznej zestawu SNP 53 JPN System, będącego panelem uzupełniającym, testowanym przez ISAG do kontroli pochodzenia koni. Dodatkowym, aplikacyjnym celem badań, było opracowanie własnego panelu markerów SNP, jako zestawu uzupełniającego do stosowania z zestawem SNP 53 JPN System. Badania przeprowadzono w grupie 801 koni, czterech ras rodzimych (koń huculski, konik polski, koń małopolski, polski koń zimnokrwisty w typie sokólskim i sztumskim), objętych programem ochrony zasobów genetycznych. Biorąc pod uwagę znaczenie, jakie w hodowli zwierząt ma dokładna i efektywna ekonomicznie identyfikacja osobnicza i kontrola pochodzenia, zagadnienia badawcze podjęte przez autorkę rozprawy doktorskiej uważam za bardzo istotne, a postawione w niej cele za uzasadnione. Szczególnie cennym jest wymiar aplikacyjny podjętych badań (opracowanie własnego panelu markerów SNP), zwłaszcza teraz, kiedy coraz częściej markery SNP zastępują sekwencje mikrosatelitarne w kontroli pochodzenia kolejnych gatunków zwierząt gospodarskich.

Rozprawa doktorska liczy 96 stron, a jej zasadnicza część podzielona została na sześć rozdziałów (wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja, wnioski). W rozdziale siódmym zamieszczony został spis literatury (86 pozycji) i adresy wykorzystanych stron internetowych (9 adresów URL). Aneks, który jest rozdziałem ostatnim (ósmym), zawiera wykresy, tabele i przykłady dodatkowych analiz, które nie znalazły się w części głównej rozprawy. Do pracy doktorskiej dołączone zostały także jej streszczenia (w języku polskim i angielskim) oraz alfabetyczny spis niektórych skrótów i oznaczeń używanych w tekście.

Przechodząc do oceny merytorycznej, uważam, że tytuł rozprawy doktorskiej mógł być bardziej precyzyjny, wskazując jednoznacznie na to, co było jej głównym celem i zawarte jest w rozdziale drugim rozprawy (Celu pracy), tj. ocena polimorfizmu genetycznego badanych zestawów markerów STR i SNP i ocena ich przydatności do kontroli osobniczej i kontroli pochodzenia wybranych ras koni. „Charakterystyka genetyczna", jak napisane jest w tytule rozprawy, jest pojęciem bardzo szerokim i nie wskazuje wystarczająco precyzyjnie czego dotyczyły prezentowane badania (po przeczytaniu całej pracy doktorskiej staje się to

oczywiste). Owszem, w rozprawie omówione są parametry różnorodności/zmienności genetycznej i struktura genetyczna badanych ras koni (markery STR), a także oceniony został polimorfizm badanych markerów mikrosatelitarnych i SNP-ów, ale były to analizy prowadząc do osiągnięcia celu głównego, czyli oceny ich przydatności do kontroli pochodzenia badanych ras koni.

We wstępie do rozprawy doktorskiej, w oparciu o dobrze dobrane źródła, krótko przedstawiony został rys historyczny zastosowania markerów genetycznych w kontroli pochodzenia zwierząt gospodarskich, po czym szczegółowo omówione zostało wykorzystanie dwóch rodzajów markerów genetycznych – STR-ów i SNP-ów, w hodowli koni. Na zakończenie tego rozdziału scharakteryzowane zostały cztery rasy koni wykorzystane w przeprowadzonych badaniach. Zabrakło mi tutaj krótkiego wprowadzenia nawiązującego do programu ochrony zasobów genetycznych, jakim objęte są te rasy, jak również podania wielkości populacji każdej rasy.

W rozdziale drugim - Cel pracy, postawione zostały cele rozprawy doktorskiej (jeden cel naukowy oraz trzy cele naukowe i utylitarne), a także szczegółowo opisane dwa pytania i hipotezy badawcze. O ile cele naukowe i utylitarne sformułowane zostały poprawnie i wystarczająco precyzyjnie (za wyjątkiem pierwszego celu naukowego i utylitarnego, gdzie tak jak w tytule rozprawy użyto mało precyzyjnego pojęcia „analiza genetyczna"), o tyle część zawierająca pytania i hipotezy badawcze budzi wątpliwości, czy powinna się w tym rozdziale znaleźć (dotyczy to pytań), oraz czy hipotezy badawcze zostały sformułowane zgodnie z zasadami. Jeżeli chodzi o pytania badawcze, to tematyka którą poruszają powinna była zostać omówiona we wstępie rozprawy (uzasadniając postawienie w kolejnym rozdziale hipotez badawczych). Jeżeli zaś idzie o hipotezy badawcze, to w zasadzie trudno się ich doszukać. Zgodnie z zasadami ich formułowania, powinny one być zdaniami twierdzącymi, wyrażonymi dokładnie i jednoznaczne, tak aby można było zweryfikować ich prawdziwość (np. odpowiednio dobranymi metodami statystycznymi) i odpowiedzieć na postawione sobie problemy badawcze. W tekście znajdującym się poniżej pytania pierwszego i pytania drugiego trudno jest znaleźć tak sformułowane i wyodrębnione hipotezy badawcze.

Rozdział trzeci – Materiały i metody, rozpoczyna się od opisu materiału doświadczalnego. Oprócz liczby próbek (krwi obwodowej i cebulek włosowych) z podziałem na rasy koni, od których zostały pobrane, oraz ich pochodzenia (LGM IZ PIB), nie podano dodatkowych informacji, które pełniej scharakteryzowałyby materiał badawczy. Zabrakło np. lat, w których gromadzone były próbki, lokalizacji, z których pochodziły, a także ich struktury płciowej. W Tabeli 1 (str. 27), gdzie podana jest liczba badanych zwierząt z podziałem na analizowane markery genetyczne, pojawiają się konie pełnej krwi angielskiej (43 próbki), które nie były przedmiotem badań. Dopiero na str. 35 dowiadujemy się, że użyto ich jako próbek technicznych, nie stanowiących przedmiotu analizy (pochodziły z testu porównawczego ISAG Horse Comparison Test). Nie było więc powodu, aby je w Tabeli 1 zamieszczać. Opis materiału doświadczalnego nie daje także pewności, że badana próba 801 koni (z podziałem na rasy) była reprezentatywna. W rozprawie napisano jedynie, że próbki wybrano losowo z kolekcji LGM IZ PIB, a kryteriami doboru były rasa i jakość izolatu. Nie podana została informacja, czy kolekcję powstałą w ramach rutynowych badań kontroli pochodzenia koni, z której pobrano materiał do badań, można uznać za reprezentatywną dla czterech badanych ras.

W podrozdziale 3.4.1 opisane zostały analizy statystyczne markerów STR. Sprowadzają się one głównie do podania oprogramowania użytego do ich przeprowadzenia. O ile jest to wystarczające w przypadku estymacji podstawowych parametrów zmienności i zróżnicowania genetycznego badanych ras koni (np. N_a, N_e, L all. pryw., H_0, H_e, PIC, F_{IS}, F_{IT}, F_{ST}), to brak wzorów definiujących sposób estymacji tak istotnych dla zagadnień poruszanych w rozprawie wskaźników, jak siła dyskryminacji (PD), prawdopodobieństwo wykluczenia (PE_1 i PE_2) oraz prawdopodobieństwo identyczności (P_{ID}) uważam za błąd. Odwołano się co prawda do oprogramowania użytego do ich oszacowania, jednak w mojej ocenie powinno to było zostać szczegółowo opisane. W części dotyczącej analizy markerów mikrosatelitarnych nie podano także informacji, czy badane *loci* były testowane na obecność alleli zerowych (jak wiadomo ich obecność może zafałszować wyniki analizy).

W podrozdziale 3.5.2 – Wybór markerów SNP, napisano że (cyt.) „Dobór SNP do własnego panelu był prowadzony w taki sposób, by wytypowany do analizy SNP nie znajdował się w bliskim sąsiedztwie innego SNP-a". Pojęcie „bliskie sąsiedztwo" jest mało precyzyjne, a

nie zostało zdefiniowane. Należało to uściślić, podając dokładnie co było kryterium zakwalifikowania SNP-ów jako zlokalizowanych w bliskim sąsiedztwie, aby można było je wykluczyć z analizy (np. dystans fizyczny, nierównowaga sprzężeń – LD, czy jeszcze coś innego).

W rozdziale czwartym rozprawy zaprezentowane zostały wyniki badań (wyniki, które nie zostały zamieszczone w części głównej rozprawy, znalazły się w aneksie), a w rozdziale piątym przeprowadzona została dyskusja. Wyniki zamieszczone zostały w tabelach, na rysunkach i wykresach. W pierwszym podrozdziale (4.1) przedstawione zostały parametry oceniające polimorfizm analizowanych markerów mikrosatelitarnych oraz struktura genetyczna badanej populacji koni. Ocena polimorfizmu badanych markerów STR (z podziałem na ocenę ogólną i szczegółową, w obrębie ras i typów użytkowych koni) przeprowadzona została prawidłowo, chociaż w kilku miejscach pojawiły się błędy. W Tabeli 4 podana jest informacja o średniej liczbie alleli, dla których częstotliwość jest równa lub większa (≥) niż 5%, podczas gdy w tekście powyżej tabeli oraz w legendzie do tabeli podana jest przeciwna interpretacja (≤ 5%). Z wyników zamieszczonych w Tabeli 4 wynika, że właściwa jest ta pierwsza interpretacja. Dodatkowo, oceniając liczbę alleli prywatnych napisano, że była ona podobna (rząd wielkości) dla wszystkich ras. Pomimo tego, że liczba ta rzeczywiście była mała (od 0.059 do 0.176), to nie napisałbym jednak, że była podobna (liczba alleli prywatnych dla ras polski koń zimnokrwisty i koń huculski była 2-3 razy wyższa, niż dla ras konik polski i koń małopolski). W Tabeli 6, podzielonej na sześć części odpowiadających badanym rasom i typom użytkowym (oznaczonych literami od A do F), oraz wydzielonej części siódmej (oznaczonej literą G), znajdują się parametry populacyjne (H_0, H_e, PIC) oraz siła dyskryminacji (PD), prawdopodobieństwo wykluczenia (PE_1 i PE_2), a także prawdopodobieństwo identyczności (P_{ID}), obliczone dla wszystkich analizowanych *loci* (części tabeli oznaczone literami od A do F), a także wartości średnie i kumulatywne tych wskaźników obliczone dla panelu 17 analizowanych *loci* (część tabeli oznaczona literą G). Uważam, że część G jest zbyteczna, ponieważ powtarza informacje, które zostały już podane w ostatnich wierszach poprzedzających ją sześciu części tabeli. Dodatkowo, omawiając wyniki, zwróciłbym już w tej części pracy uwagę na *locus* HTG6, dla którego wskaźniki prezentowane

w Tabeli 6 są znacznie niższe, niż obliczone dla pozostałych 16 *loci* (nie dotyczy to tylko koni małopolskich). Nawiązano do tego dopiero w następnym rozdziale pracy. Na końcu tej części rozdziału (str. 44-45, ale także na str. 59) napisane jest błędnie, że (cyt.) „Prawdopodobieństwo wystąpienia identycznych genotypów u dwóch losowo wybranych osobników z populacji (P_{ID}) było bardzo wysokie, graniczące z pewnością – od 0.16×10^{-17} dla rasy kn, do 9.19×10^{-17} dla z/sztum.". Właściwa interpretacja powinna być taka, że to prawdopodobieństwo jest bardzo niskie (znikome), gwarantując niemalże pewność, że dwa losowo wybrane z populacji osobniki nie będą miały identycznych genotypów.

Analiza struktury genetycznej badanej populacji koni (podrozdział 4.1.3) wykazała istnienie czterech odrębnych klastrów genetycznych odpowiadających badanym rasom koni (bez wydzielenia dwóch typów użytkowych koni zimnokrwistych). Szkoda, że mając do dyspozycji odpowiednie dane (markery STR), oprócz klastrowania bayesowskiego, nie przeprowadzono porównania zróżnicowania genetycznego badanych ras koni (i dwóch typów użytkowych koni zimnokrwistych) wykorzystują współczynnik utrwalenia (F_{ST}). Porównując parami grupy rasowe i typy użytkowe można było przetestować istotność zróżnicowania genetycznego pomiędzy nimi, walidując wyniki otrzymane z wykorzystaniem programu STRUCTURE. Podobną analizę można było także przeprowadzić stosując analizę składowych głównych (PCA – *Principal Component Analysis*). Szkoda również, że nie przeprowadzona została analiza wariancji molekularnej (AMOVA), która pozwoliłaby na określenie, jaka część całkowitej zmienności genetycznej badanej populacji koni wynikała z różnic międzyrasowych, a jaka część powodowana była zmiennością osobniczą. Dzięki zastosowaniu tych dodatkowych metod analiza struktury genetycznej populacji zostałaby pogłębiona i zyskał na dokładności.

Ocena polimorfizmu pojedynczych nukleotydów, zarówno zestawu 53 JPN System, jak i markerów własnego wyboru, przedstawiona została w podrozdziale 4.2. Polegała ona na przetestowaniu, czy badane SNP-y znajdują się w równowadze Hardy'ego-Weinberga, wyznaczeniu procentu prawidłowych odczytów (*Call Rate*) oraz estymacji częstości rzadszego allelu (MAF). Analizy te przeprowadzono dla wszystkich ras łącznie oraz z podziałem na rasy i typy użytkowe. Stwierdzono zadawalający stopień polimorfizmu dla obydwu badanych zestawów markerów, przy czym jeden marker zestawu własnego (rs395452371) został

wykluczony. Zastanawia mnie dlaczego, tak jak to miało miejsce w przypadku markerów STR, nie wykorzystano SNP-ów do analizy struktury genetycznej badanej populacji koni, a poprzestano jedynie na ocenie ich polimorfizmu. Ocena struktury genetycznej populacji na podstawie zestawu własnego SNP (wykorzystując np. programy PLINK i ADMIXTURE), pozwoliłaby na odpowiedź, czy liczba odrębnych klastrów genetycznych jest taka sama jak ta, którą określono na podstawie markerów STR. W przypadku rozbieżności należałoby pogłębić analizę i poszukać przyczyn tych różnic. Kolejnym elementem, którego zabrakło w tym rozdziale, są oszacowania prawdopodobieństwa wykluczenia (PE) i prawdopodobieństwa identyczności (P_{ID}). Nie wiem, co mogło być powodem, że zaniechano estymacji tak istotnych wskaźników.

Przeprowadzając dyskusję (rozdział piąty) autorka rozprawy doktorskiej skonfrontowała wyniki swoich badań z wynikami opublikowanymi przez innych autorów. Interpretacja pojawiających się różnic i próby ich wyjaśnienia przeprowadzone zostały dosyć sprawnie, chociaż wydaje mi się, że można było bardziej dogłębnie przeanalizować otrzymane wyniki, próbując znaleźć odpowiedź na pytanie, co było przyczyną biologiczną ich wystąpienia. W wielu przypadkach poprzestano jedynie na zwykłym porównaniu wyników badań własnych z raportami innych autorów. W dyskusji pojawiają się także powtórzenia informacji już wcześniej podanych (np. akapit trzeci, str. 56), przytaczane są ponownie w szczegółach wyniki badań zaprezentowane wcześniej w rozdziale Wyniki (np. str. 57), lub zdarzają się błędne odwołania (np. na str. 58 zamiast Tabeli 5 przywołuje się Tabelę 2). Tak jak już wcześniej zauważyłem, pojawia się także błędna interpretacja prawdopodobieństwa wystąpienia identycznych genotypów u dwóch losowo wybranych z populacji osobników (P_{ID}) – zamiast bardzo niskiego (wręcz znikomego), zinterpretowano je jako bardzo wysokie, graniczące z pewnością (str. 59). Z tytułu podrozdziału 5.2 - Zmienność genetyczna i struktura populacji na podstawie markerów SNP, należałoby usunąć część zdania mówiącą o strukturze populacji, ponieważ struktury genetycznej populacji z wykorzystaniem markerów SNP nie zbadano (zrobiono to wykorzystując markery mikrosatelitarne). Nie dysponując empirycznie zdobytymi przesłankami, unikałbym także dosyć jednoznacznie brzmiących stwierdzeń, jak to ze str. 62, dotyczące monomorficznych SNP-ów (cyt.) „Należy się więc spodziewać, że po

przetestowaniu tych SNP-ów dla większej liczby osobników w badanych rasach lub dla innych ras w rzeczywistości okażą się polimorficzne". W pracy naukowej nie powinny się znaleźć spekulacje.

Pewien niedosyt budzi fakt, że zestaw własnych markerów SNP, który jak stwierdzono we wnioskach (cyt.) „...charakteryzuje się dobrym stopniem polimorfizmu dla wszystkich badanych ras – wystarczającym i obiecującym w aspekcie przyszłego wykorzystania do kontroli rodowodów koni lub zmienności genetycznej populacji" nie został przetestowany w praktyce, aby wstępnie potwierdzić jego przydatność do kontroli pochodzenia i identyfikacji koni. Byłoby to naturalnym sfinalizowaniem tych badań, dopełniającym odpowiedzi na postawione w rozprawie doktorskiej cele badawcze.

Wyniki zaprezentowane i omówione w rozprawie doktorskiej posumowane zostały wnioskami, których sformułowano siedem. Są one odpowiedzią na cele pracy doktorskiej i w uzasadniony sposób wskazują na przydatność analizowanych zestawów markerów STR i SNP do badania zmienności i struktury genetycznej badanych ras i typów użytkowych koni oraz do ich identyfikacji i kontroli pochodzenia. Uważam, że wniosek pierwszy ma charakter ogólnej refleksji i można było go pominąć. Wydaje mi się również, że użycie we wniosku czwartym słowa „uniemożliwia" – (cyt.) „Zastosowany zestaw markerów STR uniemożliwia rozróżnienie dwóch typów użytkowych koni zimnokrwistych..." jest niezręczne. Sugeruje to bowiem, że to właściwości tych markerów (np. ich zbyt mała liczba i niski polimorfizm) są powodem braku istotnego zróżnicowania genetycznego pomiędzy polskim koniem zimnokrwistym w typie sokólskim i sztumskim (w domniemaniu, inny zestaw umożliwiłby detekcję zróżnicowania genetycznego?), podczas gdy najprawdopodobniej nie wytworzyły się jeszcze dwa odrębne klastry genetyczne. Szkoda (nawiązuję tutaj do mojej wcześniejszej uwagi), że nie zbadano struktury genetycznej tych koni wykorzystując markery SNP. Pozwoliłoby to, albo na potwierdzenie braku zróżnicowania genetycznego dwóch typów użytkowych, sugerowane przez markery mikrosatelitarne, albo na wykrycie dwóch odrębnych klastrów genetycznych. We wniosku szóstym dwukrotnie powtórzone zostało pierwsze zdanie.

Dokonując oceny rozprawy doktorskiej skupiłem się na jej wartości naukowej, jednak w trakcie czytania tekstu zauważyłem pewne niedociągnięcia (np. brak informacji, że

dodatkowe tabele i wykresy, oznaczone literą S, znajdują się w Aneksie, niska jakość rysunków utrudniająca ich odczyt, np. Rysunek 4) i błędy językowe (np. błędy interpunkcyjne i stylistyczne, niepoprawne końcówki wyrazów, szwankująca pisownia łączna i rozłączna, nieprzestrzeganie zasad pisowni rzeczowników policzalnych i niepoliczalnych – liczba/ilość). Nie wpływają one na walory poznawcze i aplikacyjne rozprawy, ale obniżają końcowe wrażenie, jakie recenzowana praca wywiera na czytelniku. Zdając sobie sprawę, że trudno jest uniknąć drobnych błędów pisarskich (np. literówek) w tekście liczącym kilkadziesiąt stron, uważam że wnikliwe przeczytanie tekstu przed jego wydrukowaniem pozwoliłoby na wyeliminowanie wielu tych niedociągnięć.

3. Wnioski końcowe

Podsumowując swoją ocenę stwierdzam, że pomimo uwag i wskazanych przeze mnie niedociągnięć, powierzona mi do recenzji rozprawa doktorska jest oryginalnym rozwiązaniem problemu badawczego o charakterze zarówno poznawczym, jak i aplikacyjnym, świadczącym o dużej wiedzy i odpowiednich kwalifikacjach autorki, które pozwalają na samodzielne prowadzenie pracy naukowej z wykorzystaniem metod i narzędzi badawczych umożliwiających znalezienie odpowiedzi na postawione sobie cele badawcze. Podjęte przez autorkę badania poszerzają także zakres wiedzy w dyscyplinie zootechnika i rybactwo oraz mogą mieć praktyczne zastosowanie.

W związku z powyższym stwierdzam, że oceniana przeze mnie rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017 poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 ust. 2 oraz ust. 3 pkt 2b Ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 roku, poz. 1669 z późn. zm.). Wnioskuję zatem do Rady Naukowej Instytutu Zootechniki – Państwowego Instytutu Badawczego o dopuszczenie pani mgr inż. Agnieszki Bieniek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Heliodor Wierzbicki