

Szczecin, dn. 18 kwietnia 2021 r.

Dr hab. Dariusz Gączarzewicz  
Katedra Biotechnologii Rozrodu Zwierząt i Higieny Środowiska  
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

### **Ocena**

**osiągnięcia naukowego pt. „Wybrane zmiany strukturalne i funkcjonalne plemników w aspekcie doskonalenia metod konserwacji i oceny nasienia knurów” oraz istotnej aktywności naukowej, dydaktycznej i popularyzatorskiej dr Moniki Trzcńskiej w postępowaniu nadania przez Radę Naukową Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego w Krakowie stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo**

### **Wykształcenie i przebieg pracy zawodowej**

Dr Monika Trzcńska jest absolwentką Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego. Dyplom ukończenia studiów na kierunku biologia otrzymała w 2000 roku po obronie pracy magisterskiej pt. „Morfologia jajowodu świni”, którą wykonała pod kierunkiem Pani Profesor Ewy Łucji Gregoraszczuk. W 2001 roku dr Monika Trzcńska podjęła pracę w Instytucie Zootechniki PIB w Krakowie, z którym do chwili obecnej związana jest Jej kariera zawodowa i naukowa. Pracę w Instytucie Zootechniki PIB dr Monika Trzcńska rozpoczęła i kontynuowała do 2005 roku na stanowisku biologa w Zakładzie Fizjologii Rozrodu Zwierząt. Następnie w latach 2005-2009 zatrudniona została na tym samym stanowisku w Dziale Biotechnologii Rozrodu Zwierząt. Stopień naukowy doktora nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika został nadany Habilitantce w 2008 roku przez Radę Naukową Instytutu Zootechniki PIB na podstawie wyróżnionej pracy doktorskiej pt. „Wykrywanie i ocena wpływu apoptozy na zdolności zapładniające plemników knura”, którą wykonała pod kierunkiem Pana Profesora Zdzisława Smorąga. Po obronie doktoratu, dr Monika Trzcńska zatrudniona była na stanowisku adiunkta w Dziale Biotechnologii Rozrodu Zwierząt (lata 2009-2017), a od 2018 roku w Zakładzie Biotechnologii Rozrodu i Kriokonserwacji. Od 2018 roku Habilitantka pełni również funkcję kierownika Krajowego Banku Materiałów Biologicznych w Instytucie Zootechniki – PIB.

Przebieg pracy zawodowej i aktywności naukowej, zarówno przed jak i po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, wskazuje na ukierunkowany zakres zainteresowań badawczych dr Moniki Trzcńskiej. Związany jest on z biotechnologią rozrodu zwierząt gospodarskich, a szczególnie z zagadnieniami dotyczącymi uwarunkowań wpływających na jakość nasienia i innowacji procesów jego konserwacji. Spójność tematyki badawczej w tym zakresie oraz odpowiednie, konsekwentne podejście w rozwiązywaniu problemów badawczych umożliwiły Kandydatce udział w licznych projektach, które realizowała również przy współpracy z zespołami innych wiodących krajowych ośrodków naukowych, między innymi z Katedry Biochemii i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Instytutu Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu, Zakładu Biologii i Patologii Rozrodu Człowieka Instytutu

Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie. Należy także podkreślić aktywność zawodowo-naukową Kandydatki o wymiernym efekcie aplikacyjnym – opracowania patentowe i wdrożeniowe dotyczące kriokonserwacji nasienia i jego wykorzystania w inseminacji trzody chlewnej, oraz działalność związaną z organizacją zachowania zasobów genetycznych zwierząt w ramach kierowania Krajowym Bankiem Materiałów Biologicznych w Instytucie Zootechniki – PIB.

**Ocena cyklu publikacji powiązanych tematycznie pt. „Wybrane zmiany strukturalne i funkcjonalne plemników w aspekcie doskonalenia metod konserwacji i oceny nasienia knurów”, przedstawionego przez Habilitantkę jako osiągnięcie naukowe.**

Wyodrębnione osiągnięcie naukowe dr Moniki Trzcńskiej pod wymienionym wyżej tytułem zostało przedstawione do oceny jako cykl czterech oryginalnych prac powiązanych tematycznie. Takie ujęcie osiągnięcia jest zgodne z obowiązującymi wymaganiami formalnymi. W skład cyklu wchodzi następujące prace:

1. **Trzcńska M.**, Bryła M., Smorąg Z. Apoptotic-like changes in the spermatozoa of fresh and stored boar semen and the quality of embryos produced *in vivo*. *Animal Reproduction Science* 124 (1-2): 90-97.
2. **Trzcńska M.**, Bryła M. Apoptotic-like changes of boar spermatozoa in freezing media supplemented with different antioxidants. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 18 (3): 473-480.
3. **Trzcńska M.**, Bryła M., Gajda B., Gogol P. Fertility of boar semen cryopreserved in extender supplemented with butylated hydroxytoluene. *Theriogenology* 83 (3): 307-313.
4. **Trzcńska M.**, Bryła M. A new sperm selection criterion for cryopreservation of boar semen. *Annals of Animal Science* DOI: 10.2478/aoas-2020-0095.

Prace te zostały opublikowane w latach 2011-2020 w indeksowanych czasopismach w bazie Journal Citation Reports (JCR), tj. *Animal Reproduction Science* (IF = 1,750), *Polish Journal of Veterinary Sciences* (IF = 0,719), *Theriogenology* (IF = 1,838), *Annals of Animal Science* (IF = 1,572). Sumaryczny wskaźnik oddziaływania (IF) dla tych prac zgodnie z rokiem ich publikacji wynosi 5,879. Całkowita natomiast wartość punktowa powyższych prac według wykazu czasopism naukowych MNiSW zgodnie z rokiem publikacji wynosi 185 pkt. Trzy prace (publikacje 1.-3.) były cytowane 44 razy. Powyższe wskaźniki świadczą o dużym zaangażowaniu Kandydatki w działalność badawczą i o wysokim poziomie realizowanych przez Nią badań.

Wszystkie publikacje wyodrębnione jako osiągnięcie naukowe są opracowaniami wieloautorskimi (od 2 do 4 współautorów), w których dr Monika Trzcńska jest pierwszym autorem. Udział Kandydatki w powstaniu prac był znaczący, Autorka określiła go w trzech pracach na 80%, natomiast w jednej na 70%. We wszystkich publikacjach udział Kandydatki obejmuje między innymi opracowanie koncepcji badań, przygotowanie metodyki i przeprowadzenie badań, opracowanie i interpretację wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku, przeprowadzenie procesu edytorskiego oraz pełnienie funkcji autora korespondencyjnego. Świadczy to o dużej samodzielności naukowej oraz o wiodącej roli dr Moniki Trzcńskiej w powstaniu powyższych prac, co potwierdzają także załączone do wniosku oświadczenia współautorów.

Prace wskazane jako osiągnięcie naukowe dr Moniki Trzcńskiej uznać należy za merytorycznie spójne, a ze względu na nie w pełni satysfakcjonujące obecnie rozwiązania w zakresie technologii wspomaganego rozrodu trzody chlewnej, podjętą w nich problematykę badawczą – za aktualną, ważną i znaczącą również w aspekcie potencjalnego zastosowania w praktyce hodowlanej. Prace obejmują zagadnienia z zakresu kompleksowego wykorzystania metod diagnostycznych do oceny jakości nasienia knura konserwowanego w stanie płynnym i mrożonym, opracowania efektywnej metody kriokonserwacji nasienia knura w oparciu o zastosowanie wybranych związków wykazujących działanie antyoksydacyjne, oraz opracowania procedur selekcji ejakulatów knura przeznaczonych do kriokonserwacji. Problematyka badawcza przedstawionych prac wskazuje na ukierunkowane działanie Kandydatki, która bazując na wcześniejszych rezultatach formułowała nowe hipotezy i cele badawcze, a następnie z konsekwencją realizowała je w prowadzonych doświadczeniach.

Podkreślić należy, że do osiągnięcia postawionych zadań Kandydatka wykorzystwała nie tylko metody laboratoryjne wpisujące się w wysokie standardy diagnostyki seminologicznej, ale również metody umożliwiające weryfikację rzeczywistej wartości biologicznej konserwowanego nasienia (analiza kompetencji rozwojowych zarodków i wskaźników płodności po inseminacji – publikacje 1. i 3.). W przeprowadzonych badaniach zastosowała między innymi komputerową analizę ruchliwości plemników (CASA), metody fluorescencyjne do oceny statusu struktur komórkowych (fluorochromy YO-PRO-1, kompleks aneksyny V i izotiocyjanianu fluoresceiny FITC, kompleks lektyny PNA i FITC, PI, JC-1), metodę TUNEL do oceny uszkodzeń DNA plemników oraz chemiluminescencyjną metodę do oceny uszkodzeń oksydacyjnych plemników. Biorąc pod uwagę podłoże i mechanizmy zmian strukturalno-funkcjonalnych plemników poddanych procesom konserwacji takie kompleksowe podejście uznać należy za w pełni uzasadnione.

Pierwsza z publikacji osiągnięcia naukowego dotyczy badań przeprowadzonych na nasieniu mieszańców pbz x wbp przechowywanym w stanie płynnym, w rozcieńczalniku Biosolwens Plus. W pracy dr Monika Trzcńska postanowiła określić zależności pomiędzy jakością nasienia użytego do inseminacji loszek a ilością i jakością pozyskanych od nich zarodków. Aby osiągnąć zamierzony cel, Kandydatka do inseminacji wykorzystwała dawki nasienia przechowywane do momentu obniżenia się udziału plemników ruchliwych do 30%. W przechowywanym nasieniu analizowała również zmiany w obrębie błony komórkowej plemników uwzględniając między innymi subpopulacje plemników apoptotycznych (test z YO-PRO-1/PI) i nekrotycznych (test z aneksyną V-FITC/PI) oraz zmiany aktywności mitochondriów plemników (test z JC-1). Umożliwiło to wskazanie knurów, których nasienie ze względu na istotnie wyższy udział plemników apoptotycznych i nekrotycznych (*vs* nasienie świeże) zostało wykorzystane do inseminacji. Dzięki temu Kandydatka wykazała, że pomimo podobnej skuteczności inseminacji nasieniem świeżym i przechowywanym, odsetek nieprawidłowych morfologicznie zarodków zwiększa się po zastosowaniu do inseminacji nasienia przechowywanego, z wysokim udziałem plemników apoptotycznych. Wyniki tych badań wskazują, że procesy związane z degeneracją zarodków mogą być efektem transdukcji sygnałów proapoptotycznych przekazywanych przez plemniki podczas zapłodnienia, niemniej jak słusznie zaznaczyła w Autoreferacie, mechanizmy procesów degeneracyjnych w tym aspekcie wymagają wyjaśnienia.

Kolejne dwie prace cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe (publikacja 2. i 3.) skupiają się na zwiększeniu efektywności procesu kriokonserwacji nasienia knura. W tym celu, mając na uwadze znany negatywny wpływ kriokonserwacji na wartość biologiczną plemników oraz nasilenie zaburzeń oksydo-redukcyjnych plemników związane z procedurami mrożenia, dr Monika Trzcńska podjęła próbę określenia skuteczności działania wybranych związków antyoksydacyjnych dodawanych do rozcieńczalnika (żółtkowo-laktozowego i żółtkowo-laktozowo-glicerolowego). W badaniach przedstawionych w publikacji 2., do suplementacji mediów konserwujących Kandydatka zastosowała różne warianty stężeń zredukowanej formy glutationu (GSH) oraz katalazy (CAT) i dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), a także warianty kombinacji obu tych związków. Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowanie wyższego stężenia GSH (5,0 mM vs 2,5 mM) korzystniej wpływa na ruchliwość, aktywność mitochondriów oraz integralność błony komórkowej plemników po rozmrożeniu. Kandydatka dowiodła również, że suplementacja rozcieńczalnika wyższym stężeniem GSH skutecznie chroni kriokonserwowane plemniki przed występowaniem zmian apoptotycznych (vs grupa kontrolna). Rezultaty podobne do uzyskanych dla GSH stwierdziła także w przypadku zastosowania wariantu z wyższym stężeniem CAT (400 IU/mL) oraz wariantów rozcieńczalnika z jednoczesnym dodatkiem SOD i CAT, niezależnie od zastosowanego stężenia (150 IU/mL SOD + 200 IU/mL CAT i 300 IU/mL SOD + 400 IU/mL CAT). W przeprowadzonych badaniach dr Monika Trzcńska wykazała zatem, że dodatek odpowiednio dobranych komponentów do rozcieńczalnika kompensuje wpływ czynników obniżających zdolność zapładniającą kriokonserwowanych plemników, co może zostać wykorzystane w doskonaleniu technologii kriokonserwacji nasienia knura. Ważną z praktycznego punktu widzenia informacją wynikającą z powyższych badań było również stwierdzenie, że zastosowane przez Kandydatkę procedury kriokonserwacji nie wpływały znacząco na uszkodzenia chromatyny plemników.

Kontynuując zagadnienie dotyczące suplementacji kriokonserwowanego nasienia knurów związkami antyoksydacyjnymi, w trzeciej pracy (publikacja 3.) dr Monika Trzcńska oceniła wpływ butylowanego hydroksytoluenu (BHT) dodawanego do rozcieńczalnika. Stosując również w tych badaniach metody odpowiednio dobrane do kompleksowej oceny nasienia stwierdziła, że każdy z trzech zastosowanych wariantów stężenia BHT (0,5 mM, 1,0 mM i 2,0 mM) działa korzystnie na sprawność aparatu ruchu (CASA), integralność błony komórkowej (test z YO-PRO-1/PI) i błon akrosomu (test z FITC-PNA/PI) rozmrożonych plemników. Ponadto, na podstawie metody chemiluminescencyjnej Kandydatka dowiodła, że niezależnie od zastosowanego stężenia, dodatek BHT do rozcieńczalnika w sposób istotny zwiększa poziom zabezpieczenia kriokonserwowanych plemników przed uszkodzeniami oksydacyjnymi. Dużą wartość aplikacyjną pracy ma jednak wskazanie stężenia użytego w badaniach związku antyoksydacyjnego o najbardziej optymalnym działaniu. Kandydatka w oparciu o wymienione wyżej metody wykazała, że taki efekt uzyskuje się po zastosowaniu rozcieńczalnika z dodatkiem zarówno 1,0 mM jak i 2,0 mM BHT. Uzyskane w ten sposób wyniki zweryfikowała w kolejnym etapie badań, w którym przeprowadzono chirurgiczną inseminację loszek nasieniem konserwowanym w obu wariantach rozcieńczalnika. Taki układ eksperymentalny umożliwił Kandydatce wykazanie, że ze względu na istotnie wyższe wskaźniki płodności, odsetek ciąży i liczbę prosiąt żywych w miocie, suplementacja rozcieńczalnika 0,1 mM BHT jest korzystniejsza.

Częścią głównego osiągnięcia dr Moniki Trzcńskiej są badania (publikacja 4.) dotyczące próby określenia kryteriów uzupełniających standardową ocenę przydatności ejakulatów knura do kriokonserwacji. Wymiernym efektem tych badań było wskazanie, że przy kwalifikacji nasienia do mrożenia oprócz oceny ruchliwości należy uwzględniać również inne metody oceny strukturalno-funkcjonalnych zmian plemników. Jak wykazała Kandydatka mogą być to metody umożliwiające identyfikowanie zaburzeń integralności błony komórkowej (test z YO-PRO-1/PI) i akrosomu (test z FITC-PNA/PI). Dzięki wykorzystaniu obu tych metod, oraz co należy podkreślić zastosowaniu autorskiej procedury kriokonserwacji, dr Monika Trzcńska dowiodła w pracy również możliwość efektywnego mrożenia/rozmrażania ejakulatów, które nie spełniają norm kwalifikujących je do tego procesu (z ruchliwością plemników poniżej 70%). Wykazała ponadto, że gdy w takich ejakulatach dodatkowo występuje wysoki (ponad 20%) udział plemników apoptotycznych oraz plemników z nieprawidłowym akrosomem, po rozmrożeniu nasienia znacząco obniża się poziom przeżywalności plemników.

Podsumowując powyższe, w publikacjach wyodrębnionych jako osiągnięcie naukowe, dr Monika Trzcńska dążąc do głębszego i lepszego poznania natury procesów zachodzących w kriokonserwowanym nasieniu knura uzyskała szereg interesujących i wartościowych danych. Są one efektem odpowiednio przemyślnych projektów, które dotyczą aktualnej problematyki badawczej i realizowane były w oparciu o dobry warsztat naukowy. W badaniach koncentrowano się na poszukiwaniu nowatorskich rozwiązań, stąd mają one duże znaczenie poznawcze i praktyczne, oraz wnoszą istotny wkład w rozwój reprezentowanej przez Habilitantkę dyscypliny naukowej. Za najważniejsze osiągnięcia uznać można:

- wykazanie, że użycie do inseminacji przechowywanego w stanie płynnym nasienia knura ze znacznym udziałem plemników apoptotycznych może nasilać procesy degeneracyjne zarodka,
- wskazanie optymalnych stężeń związków o działaniu antyoksydacyjnym jako dodatku do rozcieńczalników kriokonserwowanego nasienia knura i wykazanie ich pozytywnego wpływu na właściwości plemników,
- dowiedzenie uwarunkowań efektywnego przeprowadzania procesu mrożenia/rozmrażania nasienia knura wraz wskazaniem konieczności rozszerzenia oceny przydatności ejakulatu knura do kriokonserwacji.

*W tym kontekście przedstawienie czterech powiązanych tematycznie publikacji zamieszczonych w indeksowanych czasopismach, stanowiących podstawę przedłożonego przez Kandydatkę osiągnięcia naukowego, uważam za uzasadnione. Stwierdzam również, że oceniany cykl publikacji jest wartościowym opracowaniem naukowym i może być uznany za osiągnięcie naukowe dr Moniki Trzcńskiej w rozumieniu art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r. poz. 85 ze zm.).*

#### **Ocena istotnej aktywności naukowej**

Działalność badawcza dr Moniki Trzcńskiej zarówno przed jak i po uzyskaniu stopnia doktora jest ukierunkowana merytorycznie i dotyczy zagadnień związanych z biotechnologią rozrodu zwierząt gospodarskich, zwłaszcza trzody chlewnej. Koncentruje się ona na

wyjaśnieniu istoty strukturalno-funkcjonalnych zmian i uszkodzeń plemników podczas konserwacji nasienia oraz doskonaleniem metod jego produkcji i wykorzystania. W początkowym etapie działalności naukowej Kandydatka zajmowała się wykorzystaniem metod umożliwiających identyfikowanie w plemnikach zmian o charakterze apoptotycznym określając jednocześnie ich wpływ na wartość biologiczną nasienia. Badania z tego zakresu realizowane były w ramach projektu promotorskiego KBN (2P06D02330), a ich efektem rozprawa doktorska zatytułowana „Wykrywanie i ocena wpływu apoptozy na zdolności zapładniające plemników knura”.

Po obronie pracy doktorskiej Kandydatka konsekwentnie angażowała się w problematykę konserwacji nasienia zwierząt gospodarskich. W odniesieniu do trzody chlewnej tą tematykę badawczą uznać należy za główny nurt badawczy, a dr Monikę Trzciniąską za specjalistkę w tym zakresie. Świadczą o tym między innymi badania nad opracowaniem skutecznej, opartej o modyfikację składu rozcieńczalników, metody kriokonserwacji nasienia knura. Oprócz badań przedstawionych w cyklu prac wskazanych jako główne osiągnięcie naukowe, w ramach projektu badawczego Narodowego Centrum Nauki (N N311 524840, „Antyoksydanty i nowe związki osłaniające w kriokonserwacji nasienia knura ocenianego przy zastosowaniu markerów apoptotycznych”), Kandydatka przeprowadziła badania dotyczące zastąpienia żółtka jaja kurzego komponentami pochodzenia roślinnego w kriorozcieńczalniku. Stwierdziła, że zastosowanie roślinnych substytutów żółtka jaja kurzego, kluczowego składnika osłaniającego rozcieńczalnika żółtkowo-laktozowo-glicerolowego, nie wpływa negatywnie na plemniki podczas procesu mrożenia/rozmrażania, oraz wykazała, że dodatek odpowiednio zestawionych białek roślinnych i lecytyny sojowej umożliwia uzyskanie wysokiej jakości nasienia po rozmrożeniu.

Ponadto, w innych badaniach dotyczących kriokonserwacji nasienia Kandydatka wykazała skuteczność wzbogacenia rozcieńczalnika 1% hialuronianem sodu w ochronie plemników knura przed kriourazami.

Dr Monika Trzciniąska, poza opisanymi powyżej badaniami nad modyfikacją składu rozcieńczalników, zwróciła również uwagę na możliwość wykorzystania nowatorskich rozwiązań technologicznych w procesie kriokonserwacji nasienia. W tym celu, poprzez zastosowanie wysokiego ciśnienia hydrostatycznego, do procedury kriokonserwacji nasienia wprowadziła etap stymulacji reakcji obronnych plemników na niekorzystne czynniki oddziałujące podczas mrożenia/rozmrażania. W badaniach wykazała nie tylko poprawę efektywności modyfikacji procedury, ale również uwarunkowanie jej skuteczności od zastosowania odpowiednich kryteriów selekcji ejakulatu. Podkreślić należy, że badania w tym zakresie realizowane były w ramach interdyscyplinarnego projektu (BIOSTRATEG2 /297267/14/NCBR/2016) współfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Szeroki zakres powyższych badań, realizowanych konsekwentnie i z dużym zaangażowaniem od początku pracy naukowej, pozwolił Kandydatce na osiągnięcie postawionego sobie celu opracowania skutecznej metody kriokonserwacji nasienia knura. Potwierdzeniem tego, a także dużych umiejętności aplikacyjnych Kandydatki było uzyskanie patentu na wynalazek zatytułowany „Rozcieńczalnik do mrożenia nasienia knura i sposób mrożenia nasienia” (PL 228192 z 2018 r.), który został już również wdrożony. W pracach tych nasienie mrożone według opatentowanej metody zastosowano do standardowej inseminacji loszek uzyskując zadowalające wyniki, 90% skuteczność inseminacji i średnio

12 żywych prosiąt w miocie. Podkreślić należy również przygotowanie i opublikowanie opracowań wdrożeniowych (dwie instrukcje dotyczące zarówno technologii kriokonserwacji, jak również wykonywania chirurgicznego zabiegu domacicznej inseminacji loszek), które umożliwiają szersze, praktyczne zastosowanie rozwiązań proponowanych przez Kandydatkę.

Kolejne, potrzebne w praktyce hodowlanej zagadnienia zgłębiane przez dr Monikę Trzciniąską dotyczyły modyfikacji składu rozcieńczalników stosowanych do konserwacji nasienia knura w stanie płynnym. W badaniach z tego zakresu Kandydatka skupiła się na ochronie plemników przed niekorzystnym oddziaływaniem mikrobiomu i zanieczyszczenia bakteryjnego ejakulatu. Weryfikując działanie różnych antybiotyków (gentamycyny, polimyksyny B, florfenikolu oraz daptomycyny w rozcieńczalniku Biosolwens Plus), we wstępnych badaniach najskuteczniejsze działanie stwierdziła w przypadku florfenikolu. Kontynuując prace wykazała natomiast, że takie działanie ma jednoczesne zastosowanie florfenikolu z gentamycyną.

Dorobek naukowy dr Moniki Trzcinińskiej obejmuje także badania dotyczące określenia wpływu sezonu na jakość przechowywanego w stanie płynnym nasienia knurów. Stwierdziła w nich, że ze względu na właściwości błony komórkowej plemników, nasienie lepszej jakości pozyskuje się od knurów w miesiącach jesienno-zimowych. Wykazała ponadto, że długoterminowe przechowywanie nasienia w tym okresie związane jest z występowaniem niższego tempa zmian apoptotycznych błony komórkowej, aktywności mitochondriów i uszkodzeń chromatyny plemników.

Problematyką modyfikacji składu rozcieńczalników do konserwacji nasienia dr Monika Trzcinińska zajmowała się także u innych gatunków zwierząt. W badaniach na kriokonserwowanym nasieniu tryka wykazano, że w rozcieńczalniku zawierającym mleko, lecytyna sojowa może skutecznie zastępować żółtko jaja kurzego. Z kolei w badaniach dotyczących nasienia królika nie stwierdzono wpływu dodatku do rozcieńczalnika syntetycznego analogu gonadoliberyny (GnRH [etyloamid [des-Gly<sup>10</sup>, D-Ala<sup>6</sup>]-LH-RH]) na jakość przechowywanego w stanie płynnym nasienia.

Kandydatka brała ponadto udział w badaniach z zakresu andrologii człowieka. Zajmowała się opracowaniem cytometrycznych metod identyfikacji mikropecherzyków w osoczu nasienia mężczyzn. Uczestniczyła również w pracach dotyczących poszukiwania markerów męskiej niepłodności związanych ze strukturą chromatyny plemników oraz z oddziaływaniem reaktywnych form tlenu w nasieniu.

Obszar badawczy dr Moniki Trzcinińskiej poszerzają zagadnienia z dziedziny embriologii eksperymentalnej. Badania w tym zakresie również stanowią wartościowy element w dorobku naukowym Kandydatki. Wykazały one, że potencjał rozwojowy zarodków świni uzyskanych w warunkach hodowli pozaustrojowej jest niższy w porównaniu z zarodkami *in vivo*, oraz że większe możliwości rozwoju poimplantacyjnego mają zarodki, które w hodowli *in vitro* wcześniej (przed 8.-9. dniem) osiągnęły stadium blastocysty ekspandującej.

Kandydatka zaangażowała się również w badania modyfikacji genetycznej układu immunologicznego knurów genem  $\alpha$ -1,2-fukozylotransferazy człowieka. Badania miały na celu określenie wpływu transgenizacji na przebieg procesu spermatogenezy u knurów. Stwierdzono w nich, że zastosowana modyfikacja genetyczna samców (*pCMVFUT*) nie powoduje zaburzeń procesu spermatogenezy ani zwiększenia udziału plemników

apoptotycznych, nekrotycznych i z fragmentacją DNA w nasieniu. Nie wykazano także różnic w jakości zarodków uzyskanych od loszek inseminowanych nasieniem knurów transgenicznych i nietransgenicznych.

W ujęciu bibliometrycznym, dorobek naukowy dr Moniki Trzcńskiej (stosownie do przedstawionej dokumentacji) obejmuje 106 pozycji współautorskich, z których 25 ukazało się przed uzyskaniem stopnia doktora. Kandydatka opublikowała 15 prac w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR), w tym 4 wskazanych jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę postępowania habilitacyjnego. Większość z tych prac (13) opublikowana została po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Kandydatka jest współautorką 17 prac opublikowanych w czasopismach które nie są ujęte w bazie JCR, zamieszczone są natomiast w wykazach czasopism naukowych MNiSW (cz. B – 2003-2018; 2019-2020) oraz 4 artykułów naukowych opublikowanych przed doktoratem w czasopismach nieujętych w wykazach czasopism MNiSW. Dorobek naukowy dr Moniki Trzcńskiej obejmuje współautorstwo i redakcję monografii naukowej oraz współautorstwo 6 rozdziałów w opracowaniach tego typu. Kandydatka jest aktywna również w prezentacji swoich badań na konferencjach tematycznych, jest współautorką 59 doniesień naukowych w materiałach z konferencji międzynarodowych i krajowych, spośród których 19 (14 po uzyskaniu stopnia doktora) zostało opublikowanych w czasopismach posiadających Impact Factor. Wysoko należy ocenić aktywność dr Moniki Trzcńskiej w projektach badawczych. Kandydatka brała udział w 21 projektach (ośmiu przed i trzynastu po uzyskaniu stopnia doktora), będąc w sześciu kierownikiem projektu, z czego jeden był finansowany przez Narodowe Centrum Nauki. Spośród 15 oryginalnych prac twórczych zamieszczonych w bazie JCR, w sześciu (w tym w czterech wchodzących w skład cyklu tematycznie powiązanych publikacji) Kandydata jest pierwszym autorem (40%), a w siedmiu (47%) drugim autorem. Świadczy to o znaczącym udziale i zaangażowaniu Habilitantki w realizowaniu podjętych tematów badawczych.

Sumaryczny Impact Factor (IF) dla prac wyróżnionych w bazie JCR (15) zgodny z rokiem ich ukazania się wynosi 15,953 (po doktoracie 14,9), a dla prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe IF stanowi 5,879. Łączna liczba punktów za publikacje według wykazu czasopism naukowych MNiSW (zgodnie z rokiem ukazania się prac) wynosi 828,5 pkt, z czego 42 pkt przypada na dorobek przed ostatnim awansem, a 185 pkt za publikacje wskazane jako osiągnięcie naukowe. Prace z udziałem Kandydatki według bazy Web of Science cytowano 109 razy, a index Hirscha wynosi 7.

***Podsumowując całokształt działalności naukowej Kandydatki należy podkreślić, że od początku podjęcia pracy jest ona wyraźnie ukierunkowana na problematykę związaną z konserwacją nasienia w aspekcie doskonalenia biotechnik rozrodu u zwierząt gospodarskich, zwłaszcza trzody chlewnej. Dorobek naukowy Opiniowanej, który wydatnie został powiększony od czasu ostatniego awansu prezentuje dużą wartość zarówno poznawczą, jak i praktyczną. Działalność Kandydatki ma charakter nowatorski oraz wpisuje się w nurt aktualnej problematyki badawczej współczesnej zootechniki. Bogaty warsztat naukowy i umiejętność współpracy w zespole pozwalały dr Monice Trzcńskiej na realizację interesujących prac, których wyniki zostały upowszechnione w czasopismach naukowych***



*o szerokim oddziaływaniu. Świadczy to o posiadaniu przez Kandydatkę kompetencji naukowych i uznaniu w środowisku. Wartość merytoryczna opublikowanych prac, wyrażona między innymi wskaźnikami bibliometrycznymi, w tym prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe, w pełni uzasadniają starania dr Moniki Trzcńskiej o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego.*

### **Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej**

Dr Monika Trzcńska w ramach działalności dydaktycznej realizowanej w Instytucie Zootechniki – PIB prowadziła wykłady i ćwiczenia dla słuchaczy Niestacjonarnych Studiów Doktoranckich (2017/2018) oraz uczestników kursów z zakresu oceny nasienia knura i buhaja, które organizowane były przez Zakład Biotechnologii Rozrodu i Kriokonserwacji (2019), a wcześniej Dział Biotechnologii Rozrodu Zwierząt (2017, 2010). Tematyka zajęć prezentowanych przez Kandydatkę obejmowała między innymi zagadnienia dotyczące spermatogenezy, budowy i funkcji plemników, oceny i konserwacji nasienia, jak również organizacyjnych i prawnych aspektów funkcjonowania banków z materiałem biologicznym.

Podkreślić należy pełnienie przez Kandydatkę funkcji promotora pomocniczego w zakończonym przewodzie doktorskim dr inż. Katarzyny Poniedziałek-Kempy pt. „Wpływ zmodyfikowanych warunków dojrzewania *in vitro* oocytów oraz jakości i sposobu przygotowania nasienia knura na pozaustrojowe zapłodnienie u świni”.

Dr Monika Trzcńska w Instytucie Zootechniki – PIB odpowiedzialna jest za współpracę z podmiotami komercyjnymi w zakresie oceny i konserwacji nasienia zwierząt gospodarskich. Od 2018 roku Kandydatka jest kierownikiem Krajowego Banku Materiałów Biologicznych w Instytucie Zootechniki – PIB. Pełniąc powierzoną funkcję koordynuje działalność organizacyjną banku, uczestniczy i reprezentuje bank w międzynarodowych spotkaniach ośrodków i organizacji zajmujących się kriokonserwacją materiału biologicznego. Jest także zaangażowana w popularyzację działalności banku.

### **Podsumowanie i wniosek końcowy**

*Biorąc pod uwagę przedstawioną wyżej ocenę osiągnięcia naukowego oraz całokształtu dorobku i aktywności naukowej jak również osiągnięć dydaktycznych i organizacyjnych uważam, że dr Monika Trzcńska jest w pełni przygotowana do samodzielnej pracy naukowej. Wartościowy dorobek po otrzymaniu stopnia naukowego doktora, w tym cykl powiązanych tematycznie publikacji wskazanych jako osiągnięcie naukowe, dokumentuje kompetencje naukowe Kandydatki i stanowi istotny wkład w rozwój nauki, zarówno dyscypliny zootechnika i rybactwo, jak i dyscyplin pokrewnych.*

*Stwierdzam, że dr Monika Trzcńska spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego zawarte w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r. poz. 85 ze zm.).*

*W związku z powyższym popieram wniosek dr Moniki Trzcńskiej o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo oraz wnoszę o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu.*

*Grzegorz Witki Dariusz*