

Ocena dorobku naukowego dr Moniki Trzcńskiej w związku z powołaniem
przez Radę Naukową Instytutu Zootechniki - Państwowego Instytutu Badawczego
na recenzenta w postępowaniu habilitacyjnym

1. Materiały otrzymane do oceny

Do oceny w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego doktor Monice Trzcńskiej wpłynęły następujące materiały: wniosek przewodni, autoreferat, wykaz osiągnięć naukowo-badawczych wraz z pozostałymi osiągnięciami, kopie prac wskazanych jako osiągnięcie pt. „Wybrane zmiany strukturalne i funkcjonalne plemników w aspekcie doskonalenia metod konserwacji i oceny nasienia knurów” wraz z oświadczeniami współautorów, odpis dyplomu oraz dane wnioskodawcy. Nadesłany materiał w pełni umożliwił przygotowanie oceny w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

2. Sylwetka Ocenianej

Dr Monika Trzcńska urodziła się 28 lutego 1976 r. w Krakowie. W 2000 r. uzyskała tytuł zawodowy magistra biologii na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego na podstawie pracy magisterskiej pt. „Morfologia jajowodu świni” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Ewy Łucji Gregoraszczyk. W 2001 r. została zatrudniona na stanowisku biologa w Zakładzie Fizjologii Rozrodu Zwierząt Instytutu Zootechniki - Państwowego Instytutu Badawczego. Z Instytutem pozostaje związana do dzisiaj. W latach 2003-2005 była doktorantką, a od 2005 r. pracowała na stanowisku biologa w Dziale Biotechnologii Rozrodu Zwierząt. W 2008 r. uzyskała z wyróżnieniem dyplom doktora nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika na podstawie rozprawy pt. „Wykrywanie i ocena wpływu apoptozy na zdolności zapładniające plemników knura” przygotowanej pod kierunkiem prof. dr hab. Zdzisława Smorąga. Od 2009 r. jest zatrudniona na stanowisku adiunkta w Dziale Biotechnologii Rozrodu Zwierząt, a od 2018 r. w Zakładzie Biotechnologii Rozrodu i Kriokonserwacji. Pełni również funkcję kierownika Krajowego Banku Materiałów Biologicznych Instytutu Zootechniki - PIB. Rozwój naukowy Habilitantki uważam za prawidłowy.

3. Ocena osiągnięcia habilitacyjnego

Habilitantka zgłosiła cykl publikacji pt.: „Wybrane zmiany strukturalne i funkcjonalne plemników w aspekcie doskonalenia metod konserwacji i oceny nasienia knurów”. W skład osiągnięcia wchodzi cztery oryginalne publikacje, w których Kandydatka jest zarówno pierwszym jak i korespondencyjnym autorem.

- 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*. Anim Reprod Sci. 2011; 124(1-2), 90-97. IF 1,750; MNiSW 30 pkt.; liczba cytowań 13.
- 2) **Trzcńska M**, Bryła M. *Apoptotic-like changes of boar spermatozoa in freezing media supplemented with different antioxidants*. Pol J Vet Sci. 2015; 18(3), 473-480. IF 0,719;

MNiSW 20 pkt.; liczba cytowań 12.

- 3) **Trzcińska M**, Bryła M, Gajda B, Gogol P. *Fertility of boar semen cryopreserved in extender supplemented with butylated hydroxytoluene*. Theriogenology. 2015; 83(3), 307-313. IF 1,838; MNiSW 35 pkt.; liczba cytowań 19.
- 4) **Trzcińska M**, Bryła M. *A new sperm selection criterion for cryopreservation of boar semen*. Ann Anim Sci. 2020. DOI:10.2478/aoas-2020-0095. IF 1,572; MNiSW 100 pkt.

Przy każdej publikacji Habilitantka informuje o swoim wkładzie w powstanie publikacji i wymienia m.in. opracowanie koncepcji badań, jak również opracowanie składu rozcieńczalników, przygotowanie metodyki badań, przeprowadzenie badań, ocenę i interpretację wyników, analizę statystyczną, przygotowanie manuskryptu, polemikę z recenzentami. Swój udział Habilitantka szacuje na 80-70%. Prace pochodzą z lat 2011-2020 i są pracami kilku autorskimi (2-4 autorów). Łączna wartość prac składających się na osiągnięcie naukowe wynosi: IF 5,879; pkt. MNiSW 185. O wartości prezentowanego osiągnięcia świadczy z pewnością liczba cytowań wynosząca 44.

Temat osiągnięcia habilitacyjnego uznaję za bardzo ciekawy, Habilitantka podjęła się charakterystyki zmian strukturalnych i funkcjonalnych plemników dla potrzeb optymalizacji metod kriokonserwacji i oceny jakościowej nasienia knurów. Habilitantka prowadzi prace badawczo-rozwojowe związane ze wspomaganym rozrodem świń, diagnostyką andrologiczną i seminologią, a uzyskane wyniki mogą mieć zastosowanie w programach zachowania bioróżnorodności ras metodami *in situ* oraz *ex situ*. Zwraca uwagę na potrzebę opracowania metody kriokonserwacji nasienia knura umożliwiając pełne wykorzystanie potencjału genetycznego knurów w dowolnym czasie i miejscu oraz zwiększając ich różnorodność biologiczną. Podkreśla również konieczność zastosowania efektywnych metod oceny jakości plemników poddawanych konserwacji w stanie płynnym i mrożonym. Habilitantka postawiła sobie za cel opracowanie efektywnej metody kriokonserwacji nasienia knurów w oparciu o diagnostykę andrologiczną plemników oraz suplementację rozcieńczalników mrozeniowych.

Dr Monika Trzcińska oceniała strukturalno-funkcjonalne parametry jakości plemników obejmujące: 1) Biochemiczne i ultrastrukturalne zmiany w przepuszczalności błony komórkowej (YO-PRO-1); 2) Biofizyczne i biochemiczne zmiany w dwuwarstwie fosfolipidowej plazmolemy (translokacja reszt fosfatydyloseryny); 3) Stan przepuszczalności błon akrosomalnych plemników (glikolipidy); 4) Stopień fragmentacji DNA jądrowego plemników (metoda TUNEL); 5) Biofizyczne zmiany w mitochondrialnym potencjale transbłonowym ($\Delta\Psi_m$) (subpopulacje plemników); 6) Uszkodzenia oksydacyjne plemników (metoda chemiluminescencyjna).

Habilitantka charakteryzowała wpływ konserwacji nasienia knura w stanie płynnym w odniesieniu do odsetka i jakości uzyskanych od inseminowanych loszek zarodków w stadium blastocysty (publikacja 1). Do badań wykorzystywała dawki nasienia aż do spadku ruchliwości plemników do poziomu 30% oraz obniżenia strukturalno-funkcjonalnych parametrów jakości plemników obejmujących stopień integralności błon, stopień zaburzeń w translokacji reszt fosfatydyloseryny w dwuwarstwie fosfolipidowej plazmolemy oraz poziom zmian w mitochondrialnym potencjale transbłonowym. Wykazała, że obniżenie jakości plemników wpływa na zwiększenie odsetka plemników apoptotycznych i nekrotycznych zarodków zdegenerowanych. W publikacji nr 2 Habilitantka modyfikowała skład rozcieńczalników

mrozeniowych w oparciu o związki antyoksydacyjne: zredukowany glutation (GSH), katalazę (CAT) oraz dysmutazę ponadtlenkową (SOD). Nasienie oceniano na podstawie ruchliwości plemników oraz strukturalno-funkcjonalnych parametrów jakości, określano również stopień fragmentacji DNA plemników (TUNEL). Habilitantka wykazała, że suplementacja 5,0 mM GSH wpływa korzystnie na wybrane parametry strukturalno-funkcjonalne plemników oraz chroni plemniki przed apoptozą. Ponadto zastosowanie różnych stężeń CAT i SOD poprawia jakość plemników po rozmrożeniu. W kolejnej pracy (publikacja 3) wchodzącej w skład osiągnięcia, dr Trzcńska stosowała jako antyoksydant butylowany hydroksytoluen (BHT) w ramach wcześniej opracowanej procedury kriokonserwacji. Wykazała, że obecność BHT w istotny sposób poprawia wszystkie parametry jakościowe plemników knura w porównaniu z rozcieńczalnikiem kontrolnym. Suplementacja rozcieńczalnika 1,0 mM BHT zapewnia najwyższe parametry jakościowe plemników i gwarantuje uzyskanie bardzo wysokiego odsetka ciąży i wysokiej liczby żywych prosiąt w miocie.

Ciekawą pozycję stanowi publikacja nr 4, w której Habilitantka określa potencjalne markery jakościowe plemników w nasieniu świeżym do oceny przydatności ejakulatu do kriokonserwacji bez stosowania minimum 70% plemników ruchliwych przy jednoczesnym wdrożeniu własnej metody kriokonserwacji (patent nr PL 228192). Wykazała, poprzez ocenę stopnia integralności błony komórkowej oraz stanu przepuszczalności błon akrosomalnych plemników, skuteczność kriokonserwacji ejakulatów o ruchliwości plemników poniżej 70%. Jedynym ograniczeniem może być odsetek plemników apoptotycznych powyżej 20%, który obniża współczynnik krioprzeżywalności na poziomie poniżej 60%. Jednocześnie Habilitantka sugeruje, że ocena ruchliwości plemników w nasieniu świeżym nie powinna stanowić jedyne kryterium selekcji ejakulatów do kriokonserwacji.

W pełni zgadzam się z wnioskami Habilitantki i uważam, że stało się bardzo dobrze, iż badania są kontynuowane i jednocześnie wdrażane w ramach prac w Krajowym Banku Materiałów Biologicznych Instytutu Zootechniki - PIB.

4. Ocena pozostałego dorobku naukowego

Pozostały dorobek naukowy Habilitantki oceniam jako bardzo dobry, spełniający wszystkie oczekiwania stawiane w postępowaniu habilitacyjnym. Dr Monika Trzcńska z biotechnologią rozrodu zwierząt związała się już podczas wykonywania pracy magisterskiej dotyczącej morfologii jajowodu świń, zainteresowania te rozwijała od początku zatrudnienia w Instytucie Zootechniki - Państwowym Instytucie Badawczym, skupiając się na skutecznych metodach oceny właściwości biologicznych plemników oraz doskonaleniu metod konserwacji nasienia zwierząt gospodarskich. Ponadto uczestniczyła w badaniach niepłodności męskiej. Skupia się głównie na badaniach trzody chlewnej, z tego zakresu realizowała grant promotorski KBN 2P06D 02330 oraz rozprawę doktorską wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. Zdzisława Smorąga. Jej ekspertyza obejmuje również ocenę kompetencji rozwojowych hodowanych *in vitro* zarodków świni, ocenę wpływu transgenezy na proces spermatogenezy u świń z ogólnoustrojową ekspresją transgeny pCMVFUT i weryfikację zdolności zapładniających plemników opartą o ocenę jakości zarodków uzyskanych od loszek inseminowanych nasieniem pochodzącym od knurów transgenicznym.

Dr Monika Trzcńska skupia się na opracowaniu skutecznej metody kriokonserwacji

nasienia knura. Badania te realizowała również w ramach projektu badawczego N N311 52484, część prac weszła w skład osiągnięcia habilitacyjnego. Opracowuje możliwości skutecznej modyfikacji składu rozcieńczalnika mrożeniowego poprzez zastąpienie żółtka jaja kurzego substytutem w postaci białek roślinnych i/lub lecytyny sojowej. W ramach interdyscyplinarnego projektu BIOSTRATEG2 zajęła się wykorzystaniem wysokiego ciśnienia hydrostatycznego do kriokonserwacji nasienia knura. Bardzo cennym osiągnięciem jest z pewnością uzyskanie patentu na wynalazek pt.: „Rozcieńczalnik do mrożenia nasienia knura i sposób mrożenia nasienia”, mający olbrzymie znaczenie dla praktyki inseminacyjnej trzody chlewnej nasienia mrożonego. Habilitantka wzięła udział w przygotowaniu dwóch instrukcji wdrożeniowych dotyczących technologii kriokonserwacji oraz wykonywania chirurgicznego zabiegu domacicznej inseminacji loszek. Rozwiązanie patentowe było wdrażane w latach 2018-2019 w Zakładzie Doświadczalnym IZ - PIB Żerniki Wielkie Sp. z o.o. wykazując jego przydatność.

Dr Monika Trzcńska zajmowała się również modyfikacją składu rozcieńczalników stosowanych do konserwacji nasienia knurów w stanie płynnym, skupiając się na ograniczeniu zanieczyszczeń bakteryjnych w nasieniu oraz sezonowymi różnicami w jakości nasienia knurów. Jako dodatkowe aktywności Habilitantka wskazuje prace nad kriokonserwacją nasienia królików i tryków jak również opracowanie cytometrycznych metod identyfikacji mikropecherzyków w osoczu nasienia, jako potencjalnego markera diagnostyki niepłodności męskiej oraz procesów zapalnych.

Podsumowanie dorobku naukowego:

Łączny współczynnik IF według roku publikacji wynosi 15,953. Suma punktów MNiSW za publikacje naukowe w czasopiśmie wynosi 828,5. Dorobek poza osiągnięciem habilitacyjnym obejmuje 18 prac oryginalnych, 1 pracę przeglądową, 5 rozdziałów w monografiach oraz 20 artykułów w suplementach. W pełni akceptuję opis pozostałych osiągnięć naukowych przedstawionych w autoreferacie i wspartych publikacjami.

Analiza bibliometryczna dorobku:

Sumaryczny *Impact Factor*: 15,953

Sumaryczna liczba punktów MNiSW: 828,5

Indeks Hirscha: 7

Całkowita liczba cytowań: 109 (93 bez autocytowań)

Łączna liczba publikacji naukowych: 43

Rozdziały w monografiach/monografie: 7

Instrukcje wdrożeniowe: 2

Patent: 1

Zgłoszenie patentowe: 1

Doniesienia konferencyjne: 59

Dorobek naukowy Habilitantki uznaję za w pełni wystarczający do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego. Silnym argumentem wskazującym za nadaniem stopnia doktora nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo jest fakt, że Kandydatka w wielu publikacjach jest pierwszym lub ostatnim autorem. Ponadto badania są silnie ukierunkowane na praktyczne wdrożenia, a Habilitantka jest autorem dwóch instrukcji wdrożeniowych,

jednego wdrożonego patentu oraz jednego zgłoszenia patentowego.

5. Kierowanie i uczestniczenie w krajowych i zagranicznych projektach badawczych

Dr Monika Trzcńska była kierownikiem jednego projektu NCN, dwóch programów wieloletnich Instytutu Zootechniki - PIB w Balicach oraz trzech zadań statutowych. Jako wykonawca działała w realizacji projektu Biostrateg, dwóch projektów KBN, dwóch Sieci Naukowych, dwóch programów wieloletnich oraz ośmiu zadań statutowych. Pozyskiwanie środków zewnętrznych na badania dobrze świadczy o przygotowaniu Kandydatki do pełnienia funkcji samodzielnego pracownika naukowego, szczególnie, że wiąże się to z praktycznym zastosowaniem prowadzonych badań.

Kandydatka reprezentuje Krajowy Bank Materiałów Biologicznych w ramach Europejskiej Sieci Banków Genów dla zasobów genetycznych zwierząt (EUGENA). Uczestniczyła ponadto w spotkaniu grupy roboczej *European Regional Focal Point for Animal Genetic Resources* (ERFP) w 2018 r. Działalność ta świadczy o rozpoznawalności dr Moniki Trzcńskiej w świecie naukowym w zakresie zasobów genetycznych zwierząt.

6. Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego

Dr Monika Trzcńska dzięki prowadzeniu przez Instytut Zootechniki - PIB w Balicach studiów doktoranckich, ma możliwość realizowania działalności dydaktycznej, zaangażowana jest również w prowadzenie kursów organizowanych przez Zakład Biotechnologii Rozrodu i Kriokonserwacji w zakresie szeroko pojętej biologii rozrodu oraz zagadnieniami związanymi z prowadzeniem banków z materiałem biologicznym. Była również promotorem pomocniczym rozprawy doktorskiej (dr inż. Katarzyna Poniedziałek-Kempa, „Wpływ zmodyfikowanych warunków dojrzewania *in vitro* oocytów oraz jakości i sposobu przygotowania nasienia knura na pozaustrojowe zapłodnienie u świni”).

Dr Monika Trzcńska jest bardzo aktywna we współpracy z podmiotami komercyjnymi w zakresie oceny i konserwacji nasienia zwierząt gospodarskich. Od 2018 r. pełni funkcję Kierownika Krajowego Banku Materiałów Biologicznych w Instytucie Zootechniki - Państwowym Instytucie Badawczym. Jak już wcześniej wskazałam, Bank przystąpił do Europejskiej Sieci Banków Genów dla zasobów genetycznych zwierząt EUGENA w celu popularyzacji działalności banku i wymiany informacji dotyczącej zgromadzonych kolekcji, Habilitantka upowszechnia informacje o zgromadzonych zasobach w ramach spotkań organizowanych przez FAO, udostępniła również dane o zasobach banku na stronach internetowych EUGENA. Popularyzuje ponadto aktywność Instytutu w zakresie kriokonserwacji na portalu Klaster Life Science Kraków. Recenzowała również artykuły zamieszczane w renomowanych czasopismach naukowych.

Nie można pominąć przygotowania przez Habilitantkę ekspertyzy dla Sądu Rejonowego w Gostyninie czy oceny jakości seksowanego nasienia buhajów dla firmy Meritgen.

Dr Monika Trzcńska jest twórcą jednego przyznanego patentu dotyczącego rozcieńczalnika do mrożenia nasienia knura i sposobu mrożenia nasienia (PL 228192 B1) oraz złożonego wniosku dotyczącego sposobu przygotowania dawki inseminacyjnej

kriokonserwowanego nasienia knura (P432175).

7. Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę osiągnięcie naukowe oraz aktywność naukową, a także bardzo dobrą ocenę innych elementów działalności Habilitantki, uważam że osiągnięcia dr Moniki Trzcńskiej odpowiadają wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz.U. z 2020 r. poz. 85 ze zm.). Osiągnięcia naukowe Kandydatki mają istotne znaczenie praktyczne, dorobek naukowy Habilitantki jest ukierunkowany, co świadczy o konsekwentnie realizowanej ścieżce badawczej. Przedkładam Komisji Habilitacyjnej i Radzie Naukowej Instytutu Zootechniki – Państwowego Instytutu Badawczego pozytywną opinię i wnioskuję o nadanie dr Monice Trzcńskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo. Jednocześnie, ze względu na olbrzymi wkład w praktyczne zastosowanie badań, wnioskuję o wyróżnienie osiągnięcia habilitacyjnego.



Dr hab. n. rol. Marlena Szalata

Poznań, 31.03.2021 r.