



## 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 Trzcińskiej**

w związku z wszczęciem postępowania habilitacyjnego przez Radę Naukową Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego w Krakowie.

**Niniejsza ocena została wykonana w oparciu o dokumenty:**

- Dane wnioskodawcy
- Odpis dyplomu uzyskania stopnia doktora
- Autoreferat w języku polskim
- Wykaz osiągnięć naukowo-badawczych, wraz z pozostałymi osiągnięciami
- Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład w powstanie poszczególnych prac naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego
- Kopie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe
- Forma elektroniczna wniosku wraz z załącznikami.

W opinii recenzenta przedstawione dokumenty spełniają wymagania formalne stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora habilitowanego zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt.2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce*. (dz. U. z 2020 r. poz. 85 ze zm.)

### **I. Przebieg pracy zawodowej**

Pani dr Monika Trzcińska w 2000 roku ukończyła studia na Wydziale Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie uzyskując tytuł magistra biologii, na podstawie pracy magisterskiej pt. „**Morfologia jajowodu świni**” (promotor - prof. dr hab. Ewa Łucja Gregoraszczyk).

W 2008 roku po przedstawieniu dysertacji doktorskiej „**Wykrywanie i ocena wpływu apoptozy na zdolności zapładniające plemników knura**” (promotor – prof. dr hab. Zdzisław Smorąg) Habilitantka uzyskała z wyróżnieniem dyplom doktora nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika w Instytucie Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego w Balicach.

Dr Trzcińska w latach 2001-2005 pracowała na stanowisku biologa w Zakładzie Fizjologii Rozrodu Zwierząt, Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego. W latach 2003-2005 odbyła studia doktoranckie w Instytucie Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego w Balicach. Następnie w latach 2005-2009 zajmowała stanowisko biologa w Dziale Biotechnologii Rozrodu Zwierząt, Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego. W latach 2009-2017 pracowała na stanowisku adiunkta w Dziale Biotechnologii Rozrodu Zwierząt, Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego. Od 2018 roku Habilitantka pracuje na stanowisku adiunkta w Zakładzie Biotechnologii Rozrodu i Kriokonserwacji, w Instytucie Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego w Balicach, gdzie pełni stanowisko kierownika Krajowego Banku Materiałów Biologicznych.

## **II. Ocena osiągnięcia naukowego**

Podstawę osiągnięcia naukowego dr Trzcińskiej pt.: „*Wybrane zmiany strukturalne i funkcjonalne plemników w aspekcie doskonalenia metod konserwacji i oceny nasienia knurów*” stanowi powiązany tematycznie zbiór 4 następujących publikacji z obliczonym IF, indeksowanych w bazie JCR:

1. **Trzcińska M.**, Bryła M., Smorąg Z., (2011). 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. (IF:1,750; MNiSW:30 pkt.; L. cytowań\*:13)
2. **Trzcińska M.**, Bryła M., (2015). Apoptotic-like changes of boar spermatozoa in freezing media supplemented with different antioxidants. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 18 (3): 473-480. (IF:0,719; MNiSW:20 pkt.; L. cytowań\*:12)
3. **Trzcińska M.**, Bryła M., Gajda B., Gogol P., (2015). Fertility of boar semen cryopreserved in extender supplemented with butylated hydroxytoluene. *Theriogenology* 83 (3): 307-313. (IF:1,838; MNiSW:35 pkt.; L. cytowań\*:19)
4. **Trzcińska M.**, Bryła M., (2020). A new sperm selection criterion for cryopreservation of boar semen. *Annals of Animal Science* DOI: 10.2478/aoas-2020-0095 (IF:1,572; MNiSW:100 pkt.)

Według oświadczenia Habilitantki Jej wkład indywidualny w powstanie tych publikacji wynosi 80%. Na uwagę zasługuje fakt, że Habilitantka we wszystkich prezentowanych pracach jest pierwszym i korespondencyjnym autorem, co świadczy o Jej dominującym udziale w tych

pracach. Całkowity IF wymienionych prac wynosi **5,89**, łączna liczba punktów według MNiSZW wynosi **185** (według obecnie obowiązującej punktacji **420**), a całkowita liczba cytowań **44**. Wszystkie prace opublikowane zostały w bardzo renomowanych czasopismach naukowych z zakresu biologii reprodukcyjnej (*Animal Reproduction Science, Annals of Animal Science, Polish Journal of Veterinary Sciences, Theriogenology*). Wybór czasopism oraz dobór publikacji, jako podstawy osiągnięcia naukowego, w mojej opinii, zasługuje na uznanie.

Celem prezentowanych prac było wykorzystanie wybranych metod diagnostyki andrologicznej nasienia knurów do oceny jakości plemników konserwowanych w stanie płynnym i mrożonym oraz zastosowanie suplementacji rozcieńczalników mrozeniowych z użyciem egzogennych antyoksydantów w celu opracowania efektywnej metody kriokonserwacji nasienia knurów.

Habilitantka stosując nowoczesne techniki i metody analityczne określiła stan błon plazmatycznych plemników stosując metody fluorescencyjne z użyciem fluorochromów YO-PRO-1, jodku propydydy (PI), oraz izotiocjanianu fluoresceiny (FITC). Dodatkowo dr Trzcicka dokonała oceny stopnia fragmentacji DNA jądrowego plemników, przy zastosowaniu metody TUNEL, biofizycznych zmian w mitochondrialnym potencjale transbłonowym ( $\Delta\Psi_m$ ) przy zastosowaniu barwnika fluorescencyjnego JC-1 oraz uszkodzeń oksydacyjnych plemników z wykorzystaniem metody chemiluminescencyjnej. W mojej ocenie Habilitantka bardzo dobrze wywiązała się z postawionych zadań, uzyskując rezultaty badań o wysokiej wartości merytorycznej.

Do najważniejszych rezultatów uzyskanych w ramach osiągnięcia naukowego zaliczyć należy m. in. rozwiązanie zagadnień dotyczących zastosowania nowoczesnych metod diagnostyki andrologicznej nasienia knurów do oceny jakości plemników konserwowanych w stanie płynnym i mrożonym, jak również zagadnienia związane z zastosowaniem suplementacji rozcieńczalników mrozeniowych w celu opracowania efektywnej metody kriokonserwacji nasienia knurów. Bardzo istotne jest również wykazanie, że inseminacja loszek nasieniem o obniżonych parametrach strukturalno-funkcjonalnych plemników skutkuje uzyskaniem zwiększonego odsetka zarodków zdegenerowanych, co wskazywać może na możliwość transdukcji sygnałów proapoptotycznych pochodzących z plemników

Z kolei w badaniach dotyczących opracowania skutecznej metody kriokonserwacji nasienia knurów Habilitantka dokonała modyfikacji składu rozcieńczalników mrozeniowych w oparciu o substancje antyoksydacyjne. Dr Trzcicka wykazała, że suplementacja rozcieńczalnika 5,0 mM zredukowanym glutationem (GSH) wpływa korzystnie na wybrane

parametry strukturalno-funkcjonalne plemników oraz chroni plemniki przed apoptozą. Jednocześnie wykazano, że rozcieńczalniki zawierające zarówno dysmutazę ponadtlenkową (SOD) jak i katalazę (CAT) niezależnie od zastosowanego stężenia wywierają korzystny wpływ na jakość plemników po rozmrożeniu. Ponadto, suplementacja rozcieńczalnika mrozeniowego 1,0 mM butylowanym hydroksytoluenem (BHT) pozwoliła na uzyskanie najkorzystniejszych parametrów jakościowych plemników, co gwarantuje uzyskanie zarówno wysokiego odsetka cięż jak również liczby prosiąt w miocie. Ponadto, w wyniku przeprowadzonych badań Habilitantka stwierdziła, że ejakulatory o ruchliwości wyjściowej plemników wynoszącej 70% mogą być skutecznie zamrożone. Dodatkowo dr Trzcńska w przeprowadzonych badaniach zidentyfikowała potencjalne markery jakościowe plemników w nasieniu świeżym określające przydatność ejakulatu do kriokonserwacji.

**Na podstawie powyższej charakterystyki stwierdzam, że osiągnięcie naukowe dr Moniki Trzcńskiej stanowi istotny wkład w rozwój dyscypliny naukowej zootechnika i rybactwo oraz wnosi nowe dane do biologii reprodukcyjnej knura i w mojej opinii spełnia wymagania stawiane kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego. Całość osiągnięcia naukowego, jego układ i szerokie potraktowanie tematu, wskazuje na dużą wiedzę Habilitantki i ujawnia Jej samodzielność, a przemyślana kontynuacja zagadnień o znaczeniu poznawczym i aplikacyjnym świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu naukowym dr Moniki Trzcńskiej i stawia Ją w gronie czołowych badaczy z zakresu biologii rozrodu knura.**

### **III. Ocena istotnej aktywności naukowej**

Dorobek naukowy dr Moniki Trzcńskiej obejmuje łącznie 106 pozycji, w tym 32 oryginalne prace twórcze (15 z tych prac Habilitantka opublikowała w czasopismach indeksowanych w bazie JCR), w tym 4 stanowiące podstawę osiągnięcia naukowego. Należy nadmienić, że zdecydowana większość oryginalnych prac (28) ukazała się po uzyskaniu stopnia doktora przez dr Trzcńską. Na podkreślenie zasługuje fakt, że dr Trzcńska publikowała swoje prace w czasopismach o wysokiej randze, z wysokim współczynnikiem wpływu (IF). Wymienić tu należy takie czasopisma jak: *Animal Reproduction Science* – IF=1,721, *Theriogenology* – IF=2,073, i inne.

Pozostałą część dorobku stanowi 17 prac z listy B MNiSW, 4 artykuły nie ujęte w wykazie MNiSW, 7 monografii książkowych i rozdziałów w monografiach, 1 redakcja

aktywność kaspazy-3. Z tego zakresu badań habilitantka opublikowała 2 oryginalne prace twórcze.

Pani dr Trzcńska uczestniczyła również w badaniach nad zmodyfikowanymi genetycznie zwierzętami. Badania miały na celu zweryfikowanie, czy modyfikacja genetyczna układu immunologicznego, polegająca na wywołaniu ogólnoustrojowej ekspresji genu  $\alpha$ -1,2-fukozylotransferazy człowieka powoduje zaburzenia procesu spermatogenezy, a w konsekwencji prowadzi do wzrostu odsetka plemników apoptotycznych i nekrotycznych oraz odsetka plemników z fragmentacją DNA. W prezentowanych badaniach stwierdzono, że wprowadzona modyfikacja genetyczna układu immunologicznego knurów, wykazujących ogólnoustrojową ekspresję transgenu *pCMVFUT*, nie tylko nie indukuje zaburzeń w procesie spermatogenezy, lecz także nie prowadzi do wzrostu odsetka plemników apoptotycznych i nekrotycznych oraz odsetka plemników z fragmentacją DNA. Dodatkowo nie stwierdzono różnic w jakości zarodków uzyskanych od loszek inseminowanych nasieniem knurów transgenicznych i nietransgenicznych. Rezultaty prezentowanych badań opublikowano w postaci 2 oryginalnych prac naukowych.

Należy zaznaczyć, że głównym obszarem zainteresowań badawczych Habilitantki było opracowanie skutecznej metody kriokonserwacji nasienia knura. Badania z tego zakresu dr Trzcńska realizowała w ramach projektu badawczego NCN pt.: „Antyoksydanty i nowe związki osłaniające w kriokonserwacji nasienia knura ocenianego przy zastosowaniu markerów apoptotycznych”. Badania dotyczyły m.in. modyfikacji składu rozcieńczalnika mrożeniowego poprzez zastąpienie żółtka jaja kurzego substytutem w postaci białek roślinnych i lecytyny sojowej. Habilitantka wykazała, że żółtko jaja kurzego może być zastąpione składnikiem pochodzenia roślinnego, nie wywiera to negatywnego wpływu skutkującego obniżeniem jakości nasienia po procedurze zamrażania-rozmrażania w porównaniu ze standardowym rozcieńczalnikiem żółtkowo-laktozowo-glicerolowym. Dodatkowo, dr Trzcńska stwierdziła, że suplementacja rozcieńczalnika mieszaniną białek roślinnych i lecytyny sojowej umożliwia uzyskanie wysokiej jakości plemników po rozmrożeniu. Dr Trzcńska wykazała także, że zastosowanie nowych kryteriów selekcji ejakulatów, umożliwia wybór właściwego rozwiązania technologicznego, które pozwala na uzyskanie wysokiej jakości nasienia po rozmrożeniu. Omawiane wyki badań zostały opublikowane w postaci 5 oryginalnych prac naukowych. Efektem tych badań było uzyskanie patentu na wynalazek pt.: „Rozcieńczalnik do mrożenia nasienia knura i sposób mrożenia nasienia”, który jest oryginalnym rozwiązaniem pozwalającym na szersze zastosowanie w praktyce inseminacyjnej trzody chlewnej nasienia mrożonego zamiast powszechnie stosowanego nasienia konserwowanego w stanie płynnym.

Dodatkowo opatentowana metoda zamrażania nasienia knura może być wykorzystana do tworzenia rezerwy genetycznej izolowanego materiału biologicznego w postaci poubojowo uzyskiwanego najądrzowego nasienia knurów transgenicznych.

Pani dr Trzcńska uczestniczyła również w badaniach dotyczących modyfikacji składu rozcieńczalników stosowanych do konserwacji nasienia knura w stanie płynnym. W przeprowadzonych badaniach zastosowano modyfikacje rozcieńczalników zawierające antybiotyki: polimiksynę B, florfenikol oraz daptomycynę. Habilitantka wykazała, że rozcieńczalnik z osłoną antybakteryjną w postaci florfenikolu zapewnia najwyższą jakość nasienia podczas 6-dniowego przechowywania. Jednocześnie, równoczesna suplementacja rozcieńczalnika gentamycyną i florfenikolem gwarantuje utrzymanie wysokiej aktywności mitochondrialnej plemników i uzyskanie wysokich wskaźników rozrodczych. Z tego zakresu badań opublikowano 2 oryginalne prace twórcze.

Dr Trzcńska współpracowała także z Zakładem Biologii i Patologii Rozrodu Człowieka Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie uczestnicząc w badaniach dotyczących opracowaniu cytometrycznych metod identyfikacji mikropecherzyków w plazmie nasienia ludzkiego jako potencjalnego markera diagnostyki niepłodności męskiej oraz procesów zapalnych. Wyniki tych badań zaprezentowano w formie komunikatu naukowego.

Dr Trzcńska realizowała swoje prace badawcze w ramach 4 zewnętrznych projektów badawczych finansowanych przez KBN, NCN, Biostrateg. W 1 projekcie była kierownikiem, a w pozostałych wykonawcą. Ponadto Habilitantka była kierownikiem 2 programów wieloletnich oraz wykonawcą w 2 pozostałych. Dodatkowo Pani dr Trzcńska była kierownikiem 3 projektów w ramach działalności statutowej IZ PIB oraz wykonawcą w 8.

**Uważam, że prezentowane osiągnięcia naukowe dr Moniki Trzcńskiej posiadają wysoką wartość poznawczą i aplikacyjną. Habilitantka wykazała się istotną aktywnością naukową. Publikacja wyników badań w renomowanych czasopismach naukowych charakteryzuje Habilitantkę jako samodzielnego pracownika naukowego zdolnego do proponowania i rozwiązywania oryginalnych problemów badawczych.**

#### **IV. Ocena aktywności dydaktycznej organizacyjnej i popularyzatorskiej**

Działalność dydaktyczna dr Trzcńskiej nie jest zbyt imponująca, co oczywiście związane jest z instytucją, w której pracuje, gdzie głównym zadaniem pracownika jest praca naukowa. Tym niemniej Habilitantka prowadzi cykl wykładów i ćwiczeń na studiach doktoranckich oraz kursach organizowanych przez Zakład Biotechnologii Rozrodu

i Kriokonserwacji Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego. Tematyka zajęć poświęcona jest zagadnieniom związanym zarówno z biologią rozrodu samców różnych gatunków ssaków, począwszy od spermatogenezy, ultrastruktury i funkcji plemników, konserwacji nasienia, oceny zmian strukturalno-funkcjonalnych plemników, jak również zasadom funkcjonowania i regulacjom prawnym, którym podlegają banki z materiałem biologicznym.

Dr Trzcńska pełniła funkcję promotora pomocniczego wyróżnionej pracy doktorskiej pt.: „Wpływ zmodyfikowanych warunków dojrzewania *in vitro* oocytów oraz jakości i sposobu przygotowania nasienia knura na pozaustrojowe zapłodnienie u świni” mgr inż. Katarzyny Poniedziałek-Kempy. Obrona odbyła się w 2019 roku (promotor – prof. dr hab. Barbara Gajda). Dodatkowo, w związku z posiadanym doświadczeniem w ocenie i konserwacji nasienia zwierząt gospodarskich Habilitantka jest zaangażowana w współpracę z podmiotami komercyjnymi w tym zakresie.

Doceniając doświadczenie i dorobek naukowy dr Moniki Trzcńskiej, w roku 2018 powierzono jej funkcję Kierownika Krajowego Banku Materiałów Biologicznych w Instytucie Zootechniki - Państwowym Instytucie Badawczym. Działalność banku polega głównie na przechowywaniu kriokonserwowanego materiału biologicznego w postaci nasienia, zarodków oraz komórek jajowych pochodzących od bydła, świń, koni oraz owiec i kóz.

W celu popularyzacji działalności banku i wymianie informacji dotyczącej zgromadzonych kolekcji, przystąpiono do Europejskiej Sieci Banków Genów dla zasobów genetycznych zwierząt (EUGENA). Sieć banków EUGENA jest koordynowana przez Europejski Regionalny Punkt Kontaktowy (ERFP), działający w ramach Organizacji Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO).

W 2018 roku Habilitantka uczestniczyła w Zagrzebiu w spotkaniach grupy roboczej ERFP ds. ochrony zasobów genetycznych zwierząt metodami *ex situ* w celu wymiany informacji dotyczących zarówno typowania dawców materiału genetycznego oraz specyfiki gatunkowej poszczególnych krajów, jak również prawodawstwa Unii Europejskiej w zakresie przepisów dotyczących kolekcjonowania materiału biologicznego.

Habilitantka w ramach działań mających na celu popularyzowanie wiedzy, na portalu Klaster Life Science Kraków opublikowała informacje na temat kriokonserwacji materiału biologicznego zwierząt gospodarskich ze szczególnym uwzględnieniem roli Instytutu Zootechniki.

## V. Wniosek końcowy

Przedstawiony do recenzji monotematyczny zbiór 4 publikacji naukowych stanowiący osiągnięcie naukowe dr Moniki Trzcńskiej pt.: „*Wybrane zmiany strukturalne i funkcjonalne plemników w aspekcie doskonalenia metod konserwacji i oceny nasienia knurów*” oraz Jej istotna aktywność naukowa stanowią istotny wkład w rozwój dyscypliny naukowej zootechnika i rybactwo oraz wnoszą nowe elementy do obszaru biologii rozrodu ssaków. Stanowi to zatem pełne uzasadnienie do ubiegania się Kandydatki o stopień naukowy doktora habilitowanego nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Stwierdzam zatem, że wartościowe osiągnięcie naukowe, jak również istotna aktywność naukowa, dydaktyczna i popularyzatorska dr Moniki Trzcńskiej spełniają w pełni wymogi zawarte w art. 219 ust. 1 pkt.2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2020 r. *Prawa o szkolnictwie wyższym i nauce*. (dz. U. z 2020 r. poz. 85 ze zm.) W związku z powyższym popieram wniosek Pani dr Moniki Trzcńskiej o nadanie Jej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Olsztyn, 2021-03-22

Prof. dr hab. Władysław Kordan

