

dr hab. Anna Wysokińska, prof. uczelni
Instytut Zootechniki i Rybactwa
Wydział Agrobioinżynierii i Nauk o Zwierzętach
Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach

Siedlce, 24.09.2023r.

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Teresy Rafalskiej
pt. „Analiza fosfoproteomów ejakulatów indorów (*Meleagris gallopavo*) o zróżnicowanej
jakości biologicznej”
wykonanej w Katedrze Biochemii i Biotechnologii Zwierząt
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
pod kierunkiem dr hab. inż. Pawła Wysockiego, prof. UWM
i promotora pomocniczego dr inż. Aleksandry Orzołek

Recenzję pracy doktorskiej wykonano w odpowiedzi na Pismo Pani prof. dr. hab. Doroty Witkowskiej, Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 21.07.2023 r. (nr pisma WBZ-DZ.6350.3.1.2022).

Problem naukowy i znaczenie badań

W związku z bardzo dynamicznym rozwojem produkcji drobiarskiej (w tym produkcji indyków) istnieje potrzeba pogłębiania wiedzy w zakresie szeroko pojętej specyfiki rozrodu tego gatunku zwierząt, szczególnie w zakresie podnoszenia wydajności reprodukcyjnej. Główną biotechniką rozrodu stosowaną w przemysłowej hodowli indyków (*Meleagris gallopavo*) jest inseminacja. Ze względu na specyficzną budowę plemników tego gatunku i trudności w ustaleniu optymalnego składu rozcieńczalnika do kriokonserwacji, zabieg ten wykonuje się z wykorzystaniem nasienia świeżego. Dlatego ważne jest, aby nasienie pobrane od indorów charakteryzowało się jak najlepszą jakością. Osobniki tego gatunku ptaków mogą dawać ejakulatory prawidłowe (białe) i z syndromem żółtego nasienia (YSS). Takie ejakulatory mogą różnić się parametrami ilościowymi i jakościowymi, a także obecnością lub brakiem wybranych białek w nasieniu. Poważnym problemem w chowie indyków jest ich wrażliwość na niekorzystne warunki mikroklimatyczne, w tym na nieodpowiednie temperatury. Przy zbyt długiej ekspozycji zwierząt na wysoką temperaturę, mechanizmy termoregulacyjne mogą zostać przeciążone i w rezultacie może dojść do wystąpienia stresu cieplnego i zachwiania homeostazy organizmu. Wysoka temperatura otoczenia jest jednym z najważniejszych stresorów powodujących dotkliwe straty w produkcji drobiarskiej, w tym obniżenie wydolności układu rozrodczego. Na negatywne oddziaływanie stresu cieplnego, prowadzące

do czasowej niepłodności, bardziej narażone są samce niż samice. Stres cieplny u samców może wpływać na funkcjonowanie jąder, a w konsekwencji na proces spermatogenezy. Dlatego też badania podjęte przez Doktorantkę, dotyczące analizy ejakulatów indora z uwzględnieniem sezonu, są w pełni zasadne i celowe. Uważam, że podjęta przez Doktorantkę tematyka badawcza jest bardzo aktualna i ważna dla rozwoju badań podstawowych.

Ocena formalna i merytoryczna

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest monografią i zawiera 295 stron maszynopisu. Poszczególne rozdziały to: Wykaz skrótów (str. 8-10), Wstęp i przegląd piśmiennictwa (str. 11-34), Hipoteza badawcza i cel pracy (str. 35), Materiał i metody (str. 36-54), Wyniki (str. 55-214), Dyskusja (str. 215-245), Wnioski (str. 246-247), Piśmiennictwo (str. 248-279), Spis tabel (str. 280-286), Spis rycin (str. 287-291), Streszczenie (str. 292-293) i Summary (str. 294-295).

Praca doktorska ma postać zwartego maszynopisu, tworzy ona spójną i logiczną całość i zawiera wszystkie niezbędne elementy charakteryzujące tego typu opracowania. Tytuł dysertacji jest sformułowany poprawnie i uwzględnia w pełni zawarte w niej treści. Pracę rozpoczyna rozdział „Wstęp i przegląd piśmiennictwa”, w którym Doktorantka wyodrębniła sześć podrozdziałów, zawierających informacje uzasadniające znaczenie podjętej tematyki. W pierwszej części tego rozdziału Autorka przedstawiła charakterystykę indyka domowego, uwzględniając jego pochodzenie, użytkowość i cechy układu rozrodczego samców. W kolejnym podrozdziale Autorka skupiła się głównie na metodach przechowywania nasienia indyków i metodzie inseminacji, jako głównej biotechnice rozrodu stosowanej u tego gatunku ptaków. W następnym podrozdziale Doktorantka przedstawiła analizę czynników środowiskowych wpływających na rozród u ptaków. Zwróciła uwagę na uwarunkowania fizjologiczne i związaną z tym wrażliwość ptaków na niewłaściwe warunki mikroklimatyczne. Autorka zwróciła uwagę także na występowanie stresu cieplnego i na negatywny jego wpływ na wydajność produkcyjną i reprodukcję u ptaków. W kolejnym podrozdziale Pani Magister zajęła się opisem nasienia indorów, charakteryzując szczegółowo plazmę nasienia i elementy strukturalne plemnika. Następnie omówiła jeden z głównych problemów występujących u indorów, jakim jest zespół żółtego nasienia (YSS). Zwróciła uwagę na różnice w jakości nasienia prawidłowego (białego) i nasienia z zespołem YSS. Ponadto Doktorantka przeprowadziła analizę zawartości białka i aktywności enzymów

w nasieniu białym i żółtym. W ostatnim podrozdziale Autorka zajęła się proteomiką (w tym fosfoproteomiką) i jej rozwojem oraz przedstawiła metody identyfikacji białek.

Rozdział „Wstęp i przegląd piśmiennictwa” uznać należy za dobre wprowadzenie do opisu i zrozumienia metodyki przeprowadzonych badań. W oparciu o dobrze dobrane piśmiennictwo Autorka przedstawiła w nim najważniejsze zagadnienia związane z problematyką podjętych badań. Rozdział ten ma przemyślany układ treści i dowodzi dobrej znajomości problematyki, którą Doktorantka zajmowała się w swoich badaniach.

W kolejnym rozdziale dysertacji Doktorantka przedstawiła cel pracy i hipotezy badawcze. Uważam, że rozdział ten powinien być zatytułowany „Cel pracy i hipotezy badawcze”, Doktorantka bowiem na podstawie dotychczasowej wiedzy sformułowała trzy hipotezy badawcze, cyt.: „Istnieją różnice w składzie w składzie fosfoproteomów plazm nasienia i plemników indorów (*Meleagris gallopavo*) pochodzących z ejakulatów prawidłowych i z syndromem żółtego nasienia (YSS); „Sezon może mieć wpływ na fosfoproteom plazm nasienia i plemników indorów”; „Profil ufosforylowania białek nasienia indorów może zależeć od wybranych parametrów ilościowych i jakościowych ejakulatów”.

Głównym celem badawczym była analiza fosfoproteomów plazm nasienia i plemników pochodzących z ejakulatów prawidłowych i z syndromem żółtego nasienia (YSS) podczas dwóch wyodrębnionych sezonów tj. wiosenno-letniego i jesienno-zimowego, którą poprzedzono dokładną analizą ilościową i jakościową ejakulatów. W mojej opinii cel badań i hipotezy badawcze zostały sformułowane merytorycznie poprawnie i nie budzą zastrzeżeń.

Rozdział „Materiał i metody” jest opracowany poprawnie i szczegółowo. Autorka w sposób zrozumiały i właściwy opisała zastosowane procedury badawcze oraz materiał doświadczalny, którym było 100 ejakulatów pobranych od indorów linii BIG-6 w wieku od 39 do 42 tygodnia życia. Materiał badawczy został podzielony według trzech kryteriów: składowa ejakulatu (plazma nasienia i plemniki), rodzaj nasienia (nasienia prawidłowe – białe i nasienie nieprawidłowe (YSS) – żółte) i ze względu na sezon pobrania ejakulatu. W pierwszym etapie badań Doktorantka przeprowadziła ocenę jakościową i ilościową ejakulatów, która obejmowała koncentrację i ruchliwość plemników oraz parametry ruchu plemników określone z wykorzystaniem systemu CASA. Uważam, że uzupełnieniem ilościowej oceny ejakulatu byłby pomiar objętości, tym bardziej, że Doktorantka badała ejakulatory prawidłowe (białe) i z syndromem żółtego nasienia (YSS). Nasuwa mi się ponadto w tym miejscu pytanie, czy koncentracja plemników była określana w rozcieńczonych

ejakulatach? Pani Magister na wstępie tego rozdziału zaznaczyła, że ejakulatory po pobraniu rozcieńczano rozcieńczalnikiem Extendyl w stosunku 1:1. Oprócz wyżej wymienionych parametrów Doktorantka przeprowadziła ocenę żywotności plemników, w tym integralności błon komórkowych w rejonie akrosomowym, funkcjonalności mitochondriów, występowania zmian apoptotycznych oraz detekcji tlenu azotu w plemnikach. W plazmach nasienia oraz plemnikach przeprowadziła oznaczenia aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych – dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), peroksydazy glutationowej (GPx), katalazy (CAT) oraz pomiar zawartości zredukowanej formy glutationu (GSH) i malondialdehydu (MDA). Dodatkowo w plazmach nasienia Pani Magister oznaczyła zawartość białka całkowitego oraz dokonała pomiaru aktywności fosfatazy kwaśnej i alkalicznej. Ponadto z plazm nasienia i plemników wyizolowała białka ufosforylowane i rozdzieliła je za pomocą różnych rodzajów elektroforetycznych. Wybrane fosfoproteiny zidentyfikowała za pomocą spektrometrii mas dwiema metodami Nano LC-MS/MS i/lub MALDI-TOF/TOF.

Dobór materiału badawczego i zastosowanych metod należy uznać za adekwatny do założeń, jakie postawiła sobie Doktorantka rozpoczynając badania. Przeprowadziła je na wystarczająco liczny materiał, który poddała ocenie stosując zaawansowane techniki diagnostyczne, co niewątpliwie wymagało dużego wysiłku i zaangażowania, wyjątkowej cierpliwości i dobrego przygotowania merytorycznego. Opracowanie statystyczne wyników jest prawidłowe i nie budzi zastrzeżeń. Biorąc pod uwagę specyfikę i trudności w przeprowadzaniu tego typu badań, w tym również w zebraniu odpowiedniego materiału badawczego, stwierdzić można, że Doktorantka konsekwentnie i w sposób bardzo przemyślany zorganizowała i przeprowadziła zaplanowane analizy.

Główną część rozprawy doktorskiej stanowi bardzo obszerny rozdział „Wyniki”, który opisany jest na 165 stronach opracowania. W rozdziale tym podzielonym na 12 głównych podrozdziałów, Autorka szczegółowo opisała wyniki badań dokumentując je licznymi tabelami (100), wykresami (3) i rycinami (76). Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka stwierdziła, że występują różnice w cechach ilościowych i jakościowych ejakulatów pobieranych od indorów w zależności od rodzaju nasienia i sezonu. Potwierdziła, że ejakulatory z syndromem YSS miały niższą koncentrację i odsetek plemników żywych, niższy odsetek plemników z integralną błoną komórkową i funkcjonalnością mitochondriów, natomiast wyższy odsetek plemników apoptotycznych i nekrotycznych w porównaniu do ejakulatów prawidłowych. Wykazała także, że aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i peroksydazy glutationowej (GPx) oraz zawartość zredukowanej formy glutationu (GSH)

były istotnie wyższe w przypadku plemników z nasienia żółtego niż plemników z nasienia białego. Ponadto w nasieniu z syndromem YSS zaobserwowała wyższe aktywności fosfatazy kwaśnej i alkalicznej. Ważnym spostrzeżeniem wynikającym z przeprowadzonych badań było wykazanie przez Doktorantkę, że sezon wpływa na wybrane parametry biologiczne i biochemiczne nasienia indorów. W ejakulatach pobieranych w okresie jesienno-zimowym Autorka zaobserwowała niższy odsetek plemników generujących tlenek azotu, proapoptotycznych oraz nekrotycznych niż w ejakulatach pobieranych w sezonie wiosenno-letnim. Ponadto wykazała, że plazmy nasienia w okresie jesienno-zimowym charakteryzowały się wyższą aktywnością fosfatazy kwaśnej i dysmutazy ponadtlenkowej, natomiast niższą aktywnością peroksydazy glutationowej i katalazy oraz niższą zawartością glutationu.

Ważnym aspektem przeprowadzonych badań przez Doktorantkę było zidentyfikowanie w nasieniu indorów (plazmie i plemnikach) łącznie 142 fosfoprotein. Jak podaje Pani Magister zidentyfikowane fosfoproteiny biorą udział, m.in. w interakcji i wiązaniu się plemnika z komórką jajową, procesie zapłodnienia, organizacji cytoszkieletu, metabolizmie plemników, transporcie wewnątrzkomórkowym oraz ustalaniu składów proteomów poszczególnych przedziałów komórkowych. Doktorantka na podstawie szeroko przeprowadzonych badań wykazała, że na stopień ufosforylowania zidentyfikowanych białek wpływa zarówno rodzaj ejakulatu jak i sezon pobrania. Rozdział „Wyniki” został opracowany prawidłowo i napisany poprawnym naukowo językiem a kolejność prezentowanych wyników jest przejrzysta i zrozumiała.

W rozdziale „Dyskusja” Doktorantka dokonała omówienia uzyskanych wyników badań, odnosząc je do badań innych autorów. Rozdział ten Autorka podzieliła na siedem podrozdziałów, w których przeprowadziła dyskusję wyników swojej pracy na tle opracowań innych autorów, prawidłowo podsumowując uzyskane przez siebie wyniki. Zagadnienia, nad którymi Doktorantka skupiła się w tej części pracy, dotyczyły omówienia wpływu rodzaju ejakulatu i sezonu na parametry nasienia indora i na profil ufosforylowania białek, znaczenia procesów fosforylacji i defosforylacji białek oraz roli wybranych zidentyfikowanych fosfoprotein w fizjologii nasienia indorów.

Doktorantka w tej części pracy wykazała się bardzo dobrą znajomością cytowanej literatury, a także umiejętnością jej wykorzystania w zestawieniu z wynikami badań własnych. Rozdział ten należy uznać za bardzo dobrze przygotowaną część pracy, świadczącą

o jej dojrzałości naukowej i wysokich umiejętnościach w interpretowaniu swoich wyników badań w zestawieniu ze światową literaturą.

Na podstawie uzyskanych wyników badań Doktorantka sformułowała osiem wniosków:

1. Nasienie żółte indorów (*Meleagris gallopavo*) charakteryzowało się obniżonymi parametrami jakościowymi w stosunku do nasienia białego. W plazmach nasienia żółtego wykazano wyższe zawartości GSH i MDA oraz wyższe aktywności ALP, ACP i GPx. Plemniki z nasienia żółtego charakteryzowały się niższą zawartością MDA, niższymi wskaźnikami PMI i MMP, wyższą aktywnością enzymów antyoksydacyjnych i zawartością GSH. Ponadto w nasieniu żółtym obserwowano niższy odsetek plemników żywych oraz wyższe odsetki plemników apoptotycznych i nekrotycznych,
2. Ejakulatory pobrane podczas sezonu jesienno-zimowego cechowały się wyższym odsetkiem plemników z nienaruszoną plazmolemą w rejonie akrosomowym w porównaniu z ejakulatami z okresu wiosenno-letniego. Plazmy nasienia z okresu JZ odznaczały się niższą aktywnością GPx i CAT oraz niższymi poziomami GSH i MDA. Nasienie z tego okresu charakteryzowało się także wyższym odsetkiem plemników żywych oraz niższymi odsetkami plemników apoptotycznych i nekrotycznych. Dodatkowo plemniki w sezonie jesienno-zimowym cechowały się wyższą zawartością GSH i niższą MDA w porównaniu do sezonu wiosenno-letniego,
3. Statystycznie istotnie wyższe poziomy aktywności fosfataz kwaśnej i alkalicznej obserwowano w plazmach nasienia pochodzących od indorów z syndromem YSS. Podczas sezonu jesienno-zimowego aktywność fosfatazy kwaśnej była wyższa niż w czasie sezonu wiosenno-letniego,
4. Zarówno występowanie syndromu YSS jak i trwający sezon wpływały na profile ufosforylowania reszt serylowych i tyrozylowych białek proteomów plazm nasienia i plemników indorów,
5. W pracy zidentyfikowano 142 fosfoproteiny. Wśród nich znajdowały się białka kodowane przez następujące geny: UBB, RPS27A, SPATA18, CDC42, ACTN, TBB, ACTA, ODF2, GAPDH, PGAM, PGK, TPI, ALDOC, LDH, SDHA, FASN, APOA, CKM, GOT, CA, CALM, TRFC, FTH, HSPA, HSP, GST, PRDX, QSOX, ASTL, ANXA, ACR, GSN, VDAC oraz PLCZ1,
6. Wykazano, że fosfoproteiny zidentyfikowane w ramach niniejszej pracy, między innymi biorą udział w interakcji i wiązaniu się plemnika z komórką jajową, procesie zapłodnienia

oocyty, organizacji cytoszkieletu, metabolizmie plemników, transporcie wewnątrzkomórkowym oraz ustalaniu składów proteomów poszczególnych przedziałów komórkowych,

7. Dowiedziono, że stopień ufosforylowania białek kodowanych przez geny SPARC, FASN, PRDX1, PRDX6, QSOX1, TRFE i PPIB był statystycznie istotnie wyższy w plazmach białego nasienia. W plazmach nasienia żółtego intensywniej ufosforylowane były białka kodowane przez geny: CKB, ORM2, APOA1, SSC5D, IGLC3, LAC oraz FTH. Z kolei w czasie sezonu wiosenno-letniego wyższym stopniem ufosforylowania charakteryzowały się białka kodowane przez geny: APOA1, LAC, QSOX1, PRDX1, PRDX6, GSN, HSP90, PPIB, FTH, ASTL, TTR, GOT1 oraz CKB. Podczas sezonu jesienno-zimowego takimi właściwościami cechowało się jedynie białko SPARC,
8. Zaobserwowano, że wyższym stopniem ufosforylowania cechowały się białka kodowane przez TBB, CKMT2, VDAC2, UBB i GAPDH w plemnikach nasienia białego oraz CKB, TTR, PRDX1, RBP4 i TPI1 w plemnikach nasienia żółtego. Zaobserwowano również, że wyższym nasileniem fosforylacji cechowały się białka kodowane przez geny: ACR, CKB i TBB4 podczas sezonu wiosenno-letniego oraz RPS27A, RAP1B i TTR podczas sezonu jesienno-zimowego.

Poddaję pod rozwagę zmianę tytułu tego rozdziału z „Wnioski” na „Stwierdzenia i wnioski”, ponieważ część wymienionych punktów są bardziej stwierdzeniami niż wnioskami. Uważam również, że w tej części pracy powinien znaleźć się wniosek praktyczny odnoszący się do przeprowadzonych badań, który Doktorantka już uwzględniła, ale w „Podsumowaniu” w rozdziale „Dyskusja”.

Treść sformułowanych przez Doktorantkę wniosków koresponduje z założonymi celami i jest konsekwencją analiz danych uzyskanych w badaniach.

Rozdział „Piśmiennictwo” obejmuje 317 pozycji (w tym sześć źródeł internetowych). Są to pozycje merytorycznie związane z prezentowaną tematyką pracy i pochodzące z renomowanych czasopism i wydawnictw naukowych.

Z obowiązku recenzenta chciałabym przedstawić, oprócz tych wymienionych powyżej w recenzji, pewne zagadnienia do rozważenia przez Doktorantkę oraz moje uwagi:

1. Str. 37 - w rozdziale „Materiał i metody” - Brak podanych informacji na temat parametrów mikroskopu używanego do pomiaru koncentracji plemników. Ponadto Doktorantka przy opisie metodyki wykonywania oceny koncentracji plemników używa stwierdzenia „odpowiednia ilość nasienia”. Wydaje mi się, że w tym przypadku powinna być podana

dokładna ilość nasienia, w jakiej określano ten parametr. Również w tej części rozdziału Doktorantka podaje, cyt.: „Pomiaru koncentracji dokonywano przy pomocy....komory Bürkera”, podczas gdy w kolejnym zdaniu pisze, cyt.: „Następnie na szkiełko podstawowe nanoszono jedną kroplę nasienia i przykrywano szkiełkiem nakrywkowym. Plemniki zliczano manualnie w 20 kwadratach komory ułożonych po 10 na dwóch przekątnych siatki”. Bardzo proszę o wyjaśnienie tych stwierdzeń.

2. Str. 38, 39 - W opisie metod fluorescencyjnych dotyczących oceny integralności błon plazmatycznych i zmian apoptotycznych plemników zabrakło informacji o zastosowanych filtrach w przystawce do fluorescencji, które umożliwiły w tych badaniach właściwą identyfikację i zliczenie wybarwionych odpowiednio plemników.
3. rozdział „Wyniki” – W tabelach, w których zestawiono wyniki przedstawiające wartości współczynników korelacji pomiędzy różnymi cechami, brakuje wskazania poziomu istotności, przy którym obliczone współczynniki korelacji były istotne statystycznie; brak również wyjaśnienia, chociażby w legendach tych tabel, co oznaczają wartości współczynników korelacji wyróżnione przez Doktorantkę kolorem czerwonym. Ponadto poddałabym pod rozagę umieszczenie w pracy tych tabel, w których podane wartości współczynników korelacji nie różniły się istotnie (5 tabel).
4. Sugeruję używać słowa „inseminacja” zamiast „sztuczna inseminacja”; „liczba martwych plemników” zamiast „ilość nieżywych plemników”.

Podsumowując, wyrażone powyżej uwagi oraz sugestie wynikające z obowiązku recenzenta, mają charakter uwag korekcyjnych i nie umniejszają w żaden sposób wartości merytorycznej dysertacji doktorskiej. Praca stanowi wartościowe opracowanie naukowe o dużych walorach poznawczych. Świadczy o dobrym przygotowaniu praktycznym i naukowym Autorki, a także o opanowaniu umiejętności opracowania i redagowania pracy naukowej. Wysoko oceniam szeroki zakres analiz laboratoryjnych, które Doktorantka wykonała, wymagających zaangażowania i precyzji, a także umiejętności wykorzystania nowoczesnych technik badawczych.

Oprócz samej tematyki uzasadnionej rozwiązywaniem aktualnych problemów, za istotne zalety pracy uważam dobór metod badawczych adekwatnych do założonego celu oraz konsekwentne i logiczne przeprowadzenie badań. Z kolei za najważniejsze merytoryczne aspekty pracy uznaję: zidentyfikowanie w nasieniu indorów (w plazmie i plemnikach) łącznie 142 fosfoprotein i ich scharakteryzowanie; wykazanie wpływu sezonu na wybrane parametry

biologiczne i biochemiczne nasienia indorów; wykazanie zróżnicowania profili fosforylacji białek nasienia w zależności od rodzaju ejakulatu indora i sezonu.

Biorąc pod uwagę celowość podjętych badań, sposób i zakres ich realizacji, nowatorski charakter przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Teresy Rafalskiej stwierdzam, że oceniana praca pt.: „Analiza fosfoproteomów ejakulatów indorów (*Meleagris gallopavo*) o zróżnicowanej jakości biologicznej” w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim określonym w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2023 r. poz. 742).

W związku z powyższym przedstawiam Radzie Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie wniosek o dopuszczenie mgr inż. Katarzyny Teresy Rafalskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Równocześnie, biorąc pod uwagę szeroki zakres przeprowadzonych badań, które wymagały dużego zaangażowania i wiedzy, a także wysoki poziom naukowy rozprawy doktorskiej wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo o wyróżnienie rozprawy.

Anna Wysocka