

*Dr hab. Krystyna Żuwala, prof. UJ
(pracownik emerytowany, wolontariusz)*

Zakład Anatomii Porównawczej
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Kraków, 06.05.2025

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Barbary Kruszyńskiej

pt. „Analiza mikrostrukturalna brodawek smakowych u wybranych gatunków przeżuwaczy (Ruminantia), zajęczaków (Lagomorpha) i zwierząt drapieżnych (Carnivora)” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Hanny Jackowiak jako promotora przy wsparciu promotora pomocniczego dr hab. Kingi Skieresz-Szewczyk.

Badania naukowe Pani mgr Barbary Kruszyńskiej dotyczące brodawek smakowych u wybranych gatunków ssaków zostały przeprowadzone w Katedrze Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Podjęcie wieloaspektowych badań związanych z budową i rozmieszczeniem narządów smaku u wybranych gatunków ssaków (hodowlanych i dziko żyjących), przy zastosowaniu nowoczesnych technik badawczych, znacząco ubogaca wiedzę w tej tematyce. Jest to temat znaczący ze względu na znaczenie zmysłu smaku, chociażby przy testowaniu pobieranego pokarmu pod względem jego jakości (w tym toksyczności). Jednym z aspektów badań jest lokalizacja i różnorodność brodawek smakowych na języku ssaków, co wiąże się w dużej mierze z obróbką mechaniczną pokarmu w jamie gębowej gatunków.

Przedstawienie podstawowych danych o kandydatce:

Pani mgr Barbara Kruszyńska pracę magisterską wykonała w Zakładzie Histologii i Embriologii Zwierząt na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Tytuł magistra biologii uzyskała w 2018 roku broniąc pracy pt: „Mikrostruktura brodawek smakowych żubra, bydła i żubronia w badaniach z wykorzystaniem mikroskopii świetlnej (LM) i skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM)”.

Mgr Barbara Kruszyńska nie ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora w innym postępowaniu.

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: +48 12 664 50 06

+48 12 664 50 07

fax: +48 12 664 51 01

sekretariat.izibb@uj.edu.pl

www.izibb.wb.uj.edu.pl



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Przebieg pracy naukowo-zawodowej mgr Barbary Kruszyńskiej:

*01 marca 2024 – 28 luty 2025 – zatrudnienie na stanowisku asystenta naukowo-dydaktycznego w wymiarze ½ etatu w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt, w Katedrze Fizjologii Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu,

*29 listopad 2023 - umowa zlecenie na prowadzenie zajęć dydaktycznych w semestrze zimowym w roku akademickim 2023/2024 w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt,

* 2 marca 2022 – 28 luty 2023 – zatrudnienie na stanowisku technika w wymiarze ¼ etatu w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt, w Katedrze Fizjologii Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

* 02.12.2022 – 30.11.2023 – przebywanie na urlopie macierzyńskim przedłużonym okres urlopu rodzicielskiego

* 28 luty 2022 – umowa zlecenie na prowadzenie zajęć dydaktycznych w semestrze letnim roku akademickiego 2021/2022 w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt

* 01 marca 2021 – umowa zlecenie na prowadzenie zajęć dydaktycznych w semestrze letnim roku akademickiego 2020/2021 w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

Ocena przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej:

Wyniki przeprowadzonych przez Doktorantkę badań zostały ujęte w 1 pracy naukowej opublikowanej (w *BMC Veterinary Research*, IF 2,3; 140 pkt MNiSzW) oraz w 3 publikacjach przesłanych do druku, aktualnie w recenzji). We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem. Jej wkład pracy w dwóch z nich to 65% i w kolejnych dwóch po 80% (oświadczenia współautorów w załączeniu).

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani Barbary Kruszyńskiej składa się z dwóch części. Pierwsza zawiera manuskrypt (109 stron) o typowym układzie: spis treści, wykaz skrótów używanych w tabelach i rycinach, streszczenia pracy (w języku polskim i angielskim), wstępu (str. 5 do 13), hipotezy badawczej i celów pracy (str.14), materiałów i metod (str. 15 do 22) wyników badań (str. 23 do 59), dyskusji (str. 59 do 93), wniosków (str. 94 -96) i literatury (str. 97 - 109). Do tej części rozprawy dołączono ksero opublikowanej pracy zawierającej część wyników badań związanych z doktoratem obejmujących wyniki badań na przeżuwaczach oraz oświadczenia współauterek o procentowym udziale w pracach nad publikacją.

Druga część pracy doktorskiej (65 stron) przedstawia bardzo dobrej jakości dokumentację do uzyskanych wyników badań. Dokumentacja przedstawiona

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: +48 12 664 50 06

+48 12 664 50 07

fax: +48 12 664 51 01

sekretariat.izibb@uj.edu.pl

www.izibb.wb.uj.edu.pl

jest w formie tabel (19) oraz tablic z rycinami (48). Doktorantka załączyła również nośnik CD z wersją elektroniczną pracy doktorskiej oraz animacje video. Do drugiej części pracy dołączono także (na luźnej kartce) spis skrótów w tabelach i na rycinach, co bardzo ułatwia studiowanie tak obszernej dokumentacji.

We **Wstępie** pracy Doktorantka wprowadza czytelnika w tematykę badań. Omówiona jest budowa i funkcja języka (w tym funkcja chemoreceptywna) u ssaków. Na podstawie dobrze dobranej literatury Autorka wskazuje na aktualne trendy badawcze w tej tematyce, te bliskie jej badaniom, ale też te z wykorzystaniem technik molekularnych. Posługując się danymi z literatury Doktorantka wskazuje na zależność u różnych gatunków ssaków budowy samego języka jak i jego powierzchni od sposobu pobierania pokarmu, jakości diety i warunków środowiskowych. Znajdziemy tutaj także informacje o budowie powierzchni języka, typach brodawek tych związanych z kubkami smakowymi (grzybowate, liściaste, okolone), jak i pełniących funkcje mechaniczną (nitkowate i stożkowe). Pod tym względem zróżnicowanie między gatunkami/grupami ssaków jest również dość spore.

W dalszej części wstępu Doktorantka omawia pokrótce gatunki ssaków, na których przeprowadzono aktualne badania. Wybrano gatunki charakteryzujące się różną dietą i warunkami środowiskowymi w których żyją (roślinożerne przeżuwacze, mięsożerne i roślinożerne monogastyczne).

Uwagi (wybrane):

Znalazłam tutaj kilka niezręczności językowych jak i merytorycznych. Przykładowo:

Str 9 - kubki smakowe to raczej narządy, a nie struktury (wg mnie brzmi bardziej biologicznie)

Str 9, Kubek smakowy zbudowany jest z komórek receptorowych smakowych i komórek podporowych. Kolejną komponentą TB są wnikaćce przez błonę podstawną włókna nerwowe posiadające kontakt z komórkami receptorowymi smakowymi. Jeśli omawiamy budowę kubka smakowego to powinno omówienie być kompletne.

W części **Hipoteza badawcza i cele pracy** Doktorantka sformułowała jedną ogólną, hipotezę badawczą. W potwierdzeniu lub zaprzeczeniu postawionej hipotezy posłużą cztery zaplanowane zadania badawcze (w pracy potraktowane jako cele badawcze).



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: +48 12 664 50 06

+48 12 664 50 07

fax: +48 12 664 51 01

sekretariat.izibb@uj.edu.pl

www.izibb.wb.uj.edu.pl

Po zapoznaniu się z tekstem dysertacji myślę, że można było pokusić się o przedstawienie dwóch lub trzech hipotez bardziej szczegółowych.

W **Materiałach i metodach** Autorka informuje, że materiałem do makro- i mikroskopowych badań języków oraz ich analiz trójwymiarowych były języki dorosłych ssaków roślinożernych przeżuwających (bydła *Bos taurus*, dziko żyjącego żubra europejskiego *Bison bonasus*, oraz ich hybrydy żubronia *Bison bonasus* hybrid), roślinożernych (królik europejski *Oryctolagus cuniculus* i zająca szaraka *Lepus europaeus* – obydwie gatunki dziko żyjące oraz królika domowego *Oryctolagus cuniculus* f. *domesticus*) oraz mięsożernych psa *Canis lupus familiaris* i kota domowego *Felis catus* f. *domestica*. Materiał został dobrany zgodnie z założeniami badawczymi.

Moim zdaniem, liczba badanych gatunków mogła być mniejsza, co ułatwiłoby opracowanie wyników zachowując pełen zakres wymagań dla pracy doktorskiej.

Szkoda, że wszelkie informacje dotyczące materiału badawczego nie zostały ujęte w formie tabeli, co byłoby ułatwieniem dla czytającego. Jednak takie ujęcie pokazałoby też wyraźnie, że informacje dotyczące parametrów osobników i pobranych od nich języków nie są kompletne/ujednolicone (w dwóch grupach zwierząt podano tylko przedział wagowy osobników, w kolejnej tylko płeć).

W swoich badaniach Doktorantka wykorzystwała kilka technik badawczych, które zostały szczegółowo opisane w pracy. Cały materiał badawczy (wszystkie języki były utrwalone w 10% formaldehydzie). Do badań histologicznych w mikroskopie świetlnym wykorzystano technikę parafinową. Uzyskane w tej technice seryjne skrawki histologiczne wykorzystano również do uzyskania modeli trójwymiarowych 3D. Dokonano także pomiarów morfometrycznych brodawek smakowych u poszczególnych badanych gatunków.

Do obserwacji brodawek smakowych zajęczaków oraz zwierząt mięsożernych w skaningowym mikroskopie elektronowym zastosowano poza techniką standardową także technikę maceracji.

Uwagi:

Str.15, błąd w nazwie łacińskiej zająca szaraka (o tyle istotne, że to w części dotyczącej materiału badawczego).

Str. 17, wiersz 11. Powinno być „prześwietlenia tkanek”



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: +48 12 664 50 06

+48 12 664 50 07

fax: +48 12 664 51 01

sekretariat.izibb@uj.edu.pl

www.izibb.wb.uj.edu.pl

wiersz 18: ...w ziemnej kąpieli wodnej ... ?
str.20, w której części przekroju TB mierzono jego średnicę?

Obszerną część pracy dotyczącej uzyskanych **Wyników** Doktorantka podzieliła na 13 podrozdziałów, a niektóre z nich na liczne sekcje (szczególnie tam, gdzie budowa języka jest bardziej skomplikowana, czyli u żubra, bydła i żubronia). Omawiane są kolejno obserwacje makroskopowe, mikroskopowe powierzchni języków oraz rozmieszczenie kubków smakowych w poszczególnych grupach badawczych. Uzyskane dane ilościowe i jakościowe są obszerne i trudno je krótko opisać.

Po przeczytaniu tej części pracy wyraźnie widać, że u zwierząt odżywiających się różnym pokarmem (a takie były studiowane): (1) występuje zróżnicowanie w budowie języka (mikro i makroskopowe), (2) widoczne jest różne rozmieszczenie i zagęszczenie brodawek smakowych na powierzchni języka.

Wykazano wyraźną różnicę w rozmieszczeniu brodawek smakowych okolonych, liściastych i grzybowatych pomiędzy zwierzętami roślinożernymi a mięsożernymi.

Badania trzonów łącznotkankowych w brodawkach smakowych grzybowatych, liściastych i okolonych (dzięki zastosowaniu metody 3D i techniki maceracji brodawek smakowych do obserwacji w SEM) pozwoliły między innymi na wykazanie różnic w budowie tych trzonów między typami brodawek (np. w grzybowatych aż siedem możliwych kształtów trzonu w różnej konfiguracji w zależności od rejonu języka). Przykładowo kształt trzonu łącznotkankowego w brodawkach smakowych grzybowatych może być kolumnowy lub balonowaty a w okolonych może przypominać kwiat lub strukturę blaszkowatą), natomiast w brodawkach smakowych liściastych występuje w formie płaskich blaszek.

Badając rozmieszczenie i liczbę TBs w brodawkach okolonych psa domowego, dzięki zastosowaniu metody 3D wykazano między innymi nowe obszary występowania TBs (na bocznej powierzchni wału brodawki). Zliczenie TBs jest przy tej metodzie dokładniejsze.

Dyskusja Jest obszerna, wsparta na dobrze dobranej literaturze. Doktorantka starała się skomentować większość z uzyskanych wyników.

U przeżuwaczy Autorka wiąże liczbę brodawek grzybowatych w różnych częściach języka z funkcją mechaniczną i analizą chemiczną



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: +48 12 664 50 06

+48 12 664 50 07

fax: +48 12 664 51 01

sekretariat.izibb@uj.edu.pl

www.izibb.wb.uj.edu.pl



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

pobieranego pokarmu. W tej samej grupie ssaków wykazano różnice w średnicy brodawek grzybowatych co w różnym stopniu zależne jest od gatunku. Natomiast różnice w wysokości brodawek grzybowatych między częściami języka (różne u gatunków) mogą być dobrym wskaźnikiem dla określenia ekspozycji TBs przy analizie pokarmu.

W aktualnych badaniach po raz pierwszy dokładnie opisano brodawki grzybowate wału języka. Doktorantka stwierdziła, że u żubronia i bydła liczba brodawek grzybowatych wzrasta od części środkowej wału do tylnej, natomiast u dziko żyjącego żubra europejskiego liczba brodawek jest na mniej więcej podobnym poziomie. Najwięcej TBs w tym rejonie zliczono u żubronia i bydła. Informacje te są istotne, ponieważ rejon tylny- boczny wału języka to miejsce odbywania się analizy pokarmu w trakcie długich cykli żucia. W badaniach potwierdzono też funkcję mechaniczną wału języka przeżuwaczy.

W grupie badanych zajęczaków stwierdzono podobieństwo w budowie i wielkości języka oraz rozmieszczeniu poszczególnych rodzajów brodawek. Metoda 3D pozwoliła na wskazanie różnorodności mikrostruktur brodawek smakowych u trzech badanych gatunków. Różna jest też liczba brodawek w określonych miejscach języka.

W dyskusji Doktorantka przedstawia też m.in. interpretację zmienności liczby i kształtu (w tym trzonów łącznotkankowych) brodawek grzybowatych i kubków smakowych u badanych gatunków zajęczaków. Dzięki metodzie 3D udało się stwierdzić, że u zajęczaków najwięcej TBs (96%) w brodawkach grzybowatych, okolonych i liściastych występuje w tylnej części języka. Tutaj występuje intensywne chemiczne testowanie pokarmu w czasie rozdrabniania przed jego połyknięciem. Ciekawe jest spostrzeżenie, że królik domowy ma więcej TBs niż jego dziko żyjący przodek.

Wspominałam tylko o kilku zagadnieniach dyskutowanych przez Doktorantkę.

Uwagi:

- Jakie znaczenie ma: (1) kształt trzonu łącznotkankowego w brodawkach (poza tym, że są „platformą dla kotwiczenia nabłonka z TBs” (str 94)?; (2) ułożenie TBs w brodawkach?; (3) obecność blaszek bocznych w trzonach?

W części pracy zatytułowanej **Wnioski** Doktorantka przedstawia 10 dobrze sformułowanych wniosków. Odnosząc się do postawionej na początku hipotezy wskazuje na duże zróżnicowanie budowy brodawek smakowych u badanych przedstawicieli przeżuwaczy, zajęczaków i gatunków

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: +48 12 664 50 06

+48 12 664 50 07

fax: +48 12 664 51 01

sekretariat.izibb@uj.edu.pl

www.izibb.wb.uj.edu.pl



UNIwersytet
Jagielloński
w Krakowie

mięsożernych. Zmienność dotyczy także liczebności i rozmieszczenia na nich kubków smakowych. We wnioskach Doktorantka wskazuje na korzyści jakie dało wykorzystanie techniki 3D w przeprowadzonych badaniach. Jedną z nich jest wizualizacja sposobów rozmieszczenia kubków smakowych w obrębie brodawek, a kolejną możliwość dokładnego zliczenia kubków w obrębie poszczególnych brodawek.

Literatura obejmuje 140 dobrze dobranych pozycji literaturowych.

Uwagi:

- Brak ujednolicenia w prezentacji pozycji literaturowych: zdecydowana większość czasopism pisana pełną nazwą a niektóre skrótem np. str 101, poz. 52 ; str 108, poz. 135
- nazwy łacińskie powinny być pisane italikiem

W drugiej części pracy doktorskiej Autorka zawarła obszerną dokumentację wyników badań w formie 19 tabel i 48 tablic z fotografiami. Tabele są skonstruowane w sposób czytelny. Zdjęcia są bardzo dobrej jakości. Ich liczba i to co prezentują są adekwatne do tekstu, który wspierają.

Uwagi (wybrane):

- Tabela 5, opis – jest „...brodawek grzybowatych na poszczególnych częściach języka...”; powinno być „...brodawek grzybowatych w nabłonku poszczególnych części języka...”

Kubki smakowe zlokalizowane są w nabłonku, a nie na powierzchni języka.

- str.30, ryc. 1b – ‘...przekrój poprzeczny..’ ? przez co?
- Brak skali/powiększenia na zdjęciach 2, 3, 4, 5, 6, 7 oraz w opisach

UWAGI OGÓLNE (wybrane) dotyczące całego tekstu dysertacji:

- dość liczne literówki w całym tekście
- w kilku miejscach w tekście „...oby dwa..”
- w kilku miejscach w tekście jest napisane „... w przedniej części brodawki..” – względem czego orientowano brodawki?
- „... średnica TBs...” – w którym miejscu mierzono średnicę?

Podsumowanie

Przedstawione wyniki badań i wynikające z nich wnioski wskazują, że zastosowana nowoczesna metoda trójwymiarowej rekonstrukcji z seryjnych skrawków histologicznych (3D) jest doskonałym, efektywnym narzędziem do

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: +48 12 664 50 06

+48 12 664 50 07

fax: +48 12 664 51 01

sekretariat.izibb@uj.edu.pl

www.izibb.wb.uj.edu.pl

badzeń morfologicznych (mikrostrukturalnych) brodawek językowych smakowych ssaków oraz liczebności kubków smakowych z nimi związanych.

Kształt języka i rozmieszczenie oraz liczba brodawek smakowych na językach różnych gatunków ssaków są zróżnicowane ze względu na wiele czynników. Wydaje się, że najważniejsze z nich to sposób pobierania pokarmu, jego dostępność, różnorodność i jakość oraz mechaniczne przetwarzanie już w jamie gębowej. Uzyskane przez Doktorantkę obszernie, wieloaspektowe wyniki badań na dobrze dobranym materiale potwierdzają to.

Niewątpliwym osiągnięciem Doktorantki jest zastosowanie z powodzeniem po raz pierwszy techniki 3D do badań mikrostruktury brodawek smakowych u badanych gatunków ssaków oraz rozmieszczenia i liczby narządów smaku. Uzyskane aktualnie wyniki badań znacznie poszerzają wiedzę na temat budowy języków, ze szczególnym uwzględnieniem liczebności i rozmieszczenia narządów smaku u ssaków oraz budowy trzonów łącznotkankowych w brodawkach.

Przychylam się też do wniosku 10. jaki sformułowała Doktorantka widząc w zastosowaniu metody 3D „... *efektywne i nowoczesne narzędzie do przygotowania oceny mikrostrukturalnej smakowych brodawek językowych ssaków oraz oceny liczebności TBs, jaka będzie przydatna w dalszych badaniach narządu smaku ssaków w warunkach normy i patologii badanych zwierząt*”. Jest to więc kolejny ważny aspekt wynikający z prezentowanych badań tym razem praktyczny.

Należy odnotować jeszcze jeden aspekt tej dysertacji. Dołączone do pracy animacje są świetnym materiałem nie tylko merytorycznym, ale także dydaktycznym pobudzającym wyobraźnię studentów.

Po przestudiowaniu dysertacji muszę jeszcze raz podkreślić, że Doktorantka wykonała ogromną pracę, o czym świadczy ilość uzyskanych wyników (przy zastosowaniu kilku technik badawczych dających różne możliwości) i wyjątkowo bogata, bardzo dobrej jakości dokumentacja fotograficzna.

Jakość załączonej dokumentacji świadczy również o dobrym opanowaniu warsztatu badawczego przez Doktorantkę. Dobrze oceniam również część pracy związaną z przedyskutowaniem uzyskanych wyników co wiąże się w dużej mierze z dobrą znajomością literatury. Całość świadczy o umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy badawczej.



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: +48 12 664 50 06

+48 12 664 50 07

fax: +48 12 664 51 01

sekretariat.izibb@uj.edu.pl

www.izibb.wb.uj.edu.pl

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Barbary Kruszyńskiej pt. „Analiza mikrostrukturalna brodawek smakowych u wybranych gatunków przeżuwaczy (Ruminantia), zajęczaków (Lagomorpha) i zwierząt drapieżnych (Carnivora)” spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz.U.z 2020 r. poz.85 z późn. zm.). Wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny *Nauki biologiczne* Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na wartość uzyskanych, dzięki ogromnemu nakładowi pracy, wyników badań na szerokim, dobrze dobranym materiale i nowatorski charakter badań wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny *Nauki biologiczne* o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Barbary Kruszyńskiej.

Krzysztof Zmuda



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel.: +48 12 664 50 06
+48 12 664 50 07
fax: +48 12 664 51 01
sekretariat.izibb@uj.edu.pl
www.izibb.wb.uj.edu.pl