

Warszawa, 24.04. 2025r.

Dr hab. Aurelia Radzik-Rant, prof. SGGW

Instytut Nauk o Zwierzętach

Katedra Hodowli i Żywienia Zwierząt

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Joanny Kapustki,

pt. „Wykorzystanie wskaźników behawioralnych i neuroendokrynnych do oceny stresu u alpak (Vicugna pacos)”, wykonanej w Katedrze Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydziału Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie pod kierunkiem Promotora dr hab. Moniki Budzyńskiej.

Podstawą formalną wykonania niniejszej recenzji było pismo z dnia 01.04.2025 r.

Przewodniczącej Rady Dyscypliny Pani Prof. dr hab. Brygidy Ślaskiej.

(RPW/8334/2025; NE.5200.3.2.2025)

Alpaki od tysięcy lat hodowane są na terenie Ameryki Południowej. Światową populację alpak (Vicugna pacos) szacuje się na około 4 miliony, z czego 80% hodzi się w regionie Andów w Peru. Znaczna ilość alpak jest utrzymywana również w Boliwii i Chile. Zwierzęta te charakteryzują się dużą zdolnością do dostosowywania się do różnych warunków klimatycznych, mają także niewielkie wymagania paszowe przez co budzą zainteresowanie na całym świecie. Zostały one z powodzeniem introdukowane do Australii, Nowej Zelandii jak i innych krajów na różnych kontynentach, w tym także do Europy.

Zainteresowanie hodowlą tych zwierząt nie ominęło także Polski. Pierwsze alpaki dotarły do naszego kraju 2004 roku. Związkiem, który zrzesza hodowców i innych posiadaczy tych zwierząt jest utworzony w 2012 roku Polski Związek Hodowców Alpak, a następnie w 2018 roku Stowarzyszenie Hodowców Alpak i Lam. Włączenie alpak do grupy zwierząt gospodarskich, co miało miejsce w 2021 roku oraz obowiązek ich rejestracji i identyfikacji wskazuje na konieczność profesjonalnego podejścia do hodowli tych zwierząt w Polsce.

Południowoamerykańscy farmerzy utrzymują alpaki dla włókna, mięsa i jako środek transportu, chociaż pozyskiwanie włókna od zawsze stawiano na pierwszym miejscu. Podobnie w naszym kraju pozyskiwanie wełny jest głównym celem utrzymywania tych zwierząt. Zatem wraz z rozwojem hodowli alpaki poza kontynentem południowo amerykańskim rośnie potrzeba prowadzenia badań w zakresie jakości wełny w stadach utrzymywanych w innych niż andyjskich warunkach środowiskowych. Wcześniej jednak istnieje potrzeba naukowego podejścia w lepszym poznaniu behawioru, relacji z człowiekiem i reakcji na stres tych zwierząt, będącym dla nas gatunkiem egzotycznym, w co doskonale wpisują się podjęte przez Doktorantkę nowatorskie badania przedstawione w dysertacji. Podjęcie tych badań jest nie tylko uzasadnione ale i niezwykle potrzebne.

Ocena formalna pracy

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Joanny Kapustki zawiera 87 stron maszynopisu, łącznie z dołączonymi kopiami 3 oryginalnych, opublikowanych w wysoko punktowanych czasopismach, prac naukowych stanowiących podstawę naukową rozprawy oraz oświadczenia wszystkich współautorów tych prac. Przygotowana z dużą starannością edytorską rozprawa jest zgodna z ogólnie przyjętym podziałem i zawiera stronę tytułową, oświadczenie promotora i autora rozprawy doktorskiej, spis treści, wykaz prac wchodzących w skład cyklu, wykaz zastosowanych skrótów, streszczenie (w języku polskim i angielskim), wstęp, cel naukowy i hipotezy badawcze. Rozdział materiał i metody uwzględnia poszczególne etapy badań odpowiadające treściom zawartym w przedstawionych publikacjach, podobnie jak rozdziały wyniki i dyskusja. Kolejne rozdziały to stwierdzenia i wnioski oraz bibliografia. Autorka łącznie wykorzystała 122 pozycje literatury tematycznie związanej z rozprawą doktorską, nie wliczając pozycji, które znalazły się w opublikowanych pracach.

W skład rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Joanny Kapustki pt. „Wykorzystanie wskaźników behawioralnych i neuroendokrynnych do oceny stresu u alpaki (*Vicugna pacos*)” wchodzi trzy spójne tematycznie, współautorskie publikacje naukowe, zweryfikowane pod względem redakcyjnym i pozytywnie ocenione przez anonimowych recenzentów tj:

1. **Kapustka J.**, Budzyńska M., Witkowska-Piłaszewicz O., Fabjanowska J. 2023. Flight distance at pasture and stress response during shearing in alpacas. *Journal of Veterinary Behavior*, 63, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2023.03.002>
2. **Kapustka J.**, Budzyńska M., Staniszeńska P., Strachecka A., Staniszeński A., Wojtaś J. 2024. The influence of selected factors on wool cortisol concentration in alpacas

(Vicugna pacos). *General and Comparative Endocrinology*, 350, 114474.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2024.114474>

3. Budzyńska M., **Kapustka J.**, Stępniewska A. 2024. Behavioural and neuroendocrine responses in alpacas (*Vicugna pacos*) to the shearing procedure. *Small Ruminant Research*, 240, 107383. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2024.107383>

Wyżej wykazane artykuły zostały opublikowane w latach 2023–2024 w dobranych odpowiednio do tematyki badań czasopismach indeksowanych przez tzw. Listę JCR o wskaźnikach naukowo metrycznych wynoszących: **Journal of Veterinary Behavior** (MNiSW=100; IF=1,3), **General and Comparative Endocrinology** (MNiSW=100; IF=2,1), **Small Ruminant Research** (MNiSW=100; IF=1,6). Łączna punktacja, liczona według listy MNiSW na dzień wydania prac **wynosi 300 pkt**, natomiast **IF** jest równy **5,0**.

We wszystkich publikacjach zgodnie z przedstawionymi w pracy oświadczeniami Współautorów udział Doktorantki był wiodący i wynosił 70% (praca 1), 55% (praca 2) oraz 45% (praca 3). Autorka w każdej pracy uczestniczyła w opracowaniu jej koncepcji, założeń metodologicznych, planowaniu i przeprowadzaniu doświadczenia, gromadzeniu danych i analizie wyników, redagowaniu manuskryptu, oraz jego korekcie po recenzjach, co świadczy o dobrym przygotowaniu do prowadzenia pracy naukowej. Z kolei współautorski charakter zamieszczonych publikacji wskazuje na umiejętność pracy w zespole.

Biorąc powyższe pod uwagę przedstawiona do oceny rozprawa pod względem formalnym nie budzi żadnych zastrzeżeń.

Ocena merytoryczna pracy

Problematyka badawcza 3 publikacji, stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej dotyczyła wykorzystania wskaźników behawioralnych i neuroendokrynych w ocenie stresu u alpак wywołanego zabiegiem jakim jest strzyża oraz warunkami środowiskowymi.

We wstępie Doktorantka podkreśliła ważność poznania behawioru zwierząt mało znanych w Polsce, a których hodowla zaczyna nabierać tempa. Niewielka ilość badań w tym zakresie spowodowała, że Pani mgr Joanna Kapustka umiejętność odczytywania sygnałów w postaci mowy ciała alpак, zachowań agonistycznych (plucie, kopanie) czy wokalizacji głosowych zdobyła ucząc się tych zwierząt na podstawie własnych obserwacji (wcześniejsze publikacje) oraz podejmowanych przez innych badaczy na alpакach czy innych gatunkach zwierząt. Zachowania i sygnały okazywane przez alpaki, zdaniem Autorki mogą wskazywać na pojawienie się u nich stresu i poczucia zagrożenia jak również dają możliwość nawiązania pozytywnych relacji z człowiekiem, co znacznie podwyższa dobrostan zwierząt, ułatwia ich

obsługę, a nawet pomaga w wykorzystaniu alpak w cieszącej się dużym zainteresowaniem animaloterapii. Potrzebę określania poziomu neurohormonów (adrenalina, noradrenalina, kortyzol, dopamina, serotonina czy tyroksyna), pomocnych w odczytywaniu reakcji stresogennych u alpak udawadnia Doktorantka przytaczając wyniki badań przeprowadzonych na innych gatunkach zwierząt. Planując własne badania, przedstawione w dysertacji, chciała uzyskać odpowiedź na pytanie czy wskaźniki te mogą pozwolić nie tylko na ocenę tych reakcji, ale i określenie ich interakcji ze wskaźnikami behawioralnymi. Należy podkreślić, iż doskonałym jest wybór przez Doktorantkę wełny jako indykatora długotrwałego stresu poprzez badanie w niej zawartości kortyzolu. Wybór strzyży jako czynnika stresującego u alpak utrzymywanych w Polsce był także trafny. Zabieg ten u zwierząt produkujących wełnę jest konieczny nie tylko z uwagi na pozyskiwanie tego surowca ale i ich dobrostan. Doktorantka za główny cel naukowy wyznaczyła określenie, które wskaźniki behawioralne i neuroendokrynne mogą być wykorzystane do oceny stresu u alpak utrzymywanych w Polsce. Dokładniejszego jego sprecyzowania dokonała podając trzy cele szczegółowe. Postawione dwie hipotezy badawcze zostały sformułowane w sposób bardzo przemyślany, podobnie jak zaplanowane badania pozwalające na ich zweryfikowanie. Świadczy to o dobrym przygotowaniu teoretycznym i merytorycznym Doktorantki do realizacji zamierzonych badań.

Na początku rozdziału „Materiał i metody” Autorka przedstawiła zestawienie liczbowe zwierząt biorących udział w poszczególnych etapach badań z uwzględnieniem płci i wieku w formie tabeli. Dokonała także charakterystyki warunków ich chowu odnośnie sposobu utrzymania, żywienia, opieki ze strony obsługi i służby weterynaryjnej w gospodarstwie w którym realizowano wszystkie trzy etapy badań. W następnej kolejności przedstawiła założenia metodyczne oddzielnie dla przeprowadzonych doświadczeń (P1; P2; P3), szczegółowo opisując sposób oceny badanych wskaźników behawioralnych i metod analitycznych stosowanych w określaniu poziomu parametrów neuroendokrynnych. Należy zwrócić uwagę na pracochłonność badań, ilość czasu i wysiłku potrzebnego do wnikliwego obserwowania zwierząt, pobierania próbek (śliny, krwi, wełny), wykonania analiz laboratoryjnych, umiejętnego sporządzenia etogramu pozwalającego na prawidłowe odczytanie sygnałów wskazywanych przez zwierzęta przed, w trakcie i po strzyży. Należy także podkreślić prawidłowość doboru przez Doktorantkę procedur statystycznych w poszczególnych doświadczeniach, które pozwoliły na opracowanie danych i uzyskanie wyników docenionych w recenzowanych i opublikowanych artykułach naukowych.

W rozdziale „Wyniki” i w rozdziale „Dyskusja” Autorka w sposób uporządkowany, zgodnie z etapami w jakich przeprowadzano doświadczenia, przedstawiła uzyskane wyniki

badania zarówno w formie opisowej jak i graficznej, analogicznie jak w dołączonych oryginalnych publikacjach, co znacznie ułatwiło ich prześledzenie. W podobny sposób przedstawiła ich omówienie i interpretację.

W pierwszym etapie badania (P1) dokonano oceny dystansu ucieczki, reakcji behawioralnych i fizjologicznych podczas strzyży alpaki wykonywanej na leżąco. W drugim etapie (P2) oceniono poziom kortyzolu w wełnie, trzeci etap (P3) obejmował ocenę reakcji behawioralnych i poziomu wskaźników neuroendokrynnych przed strzyżą, w dniu strzyży, oraz w 5 i 10 dniu po strzyży, tym razem wykonywanej na stojąco.

W pierwszym etapie, badania wykazały niższy dystans ucieczki u alpaki w relacji z osobą znajomą w porównaniu z osobą nieznajomą, jak również dodatnią korelację pomiędzy tymi reakcjami. Poziom kortyzolu oznaczony w ślinie wzrastał na skutek przeprowadzanej strzyży. Interesującym wynikiem jest ujemna korelacja pomiędzy kolejnością strzyżenia alpaki a poziomem kortyzolu przed strzyżą i ilością zachowań świadczących o stresie, co zdaniem Autorki może być wskazówką dla hodowców odnośnie przygotowywania zwierząt do strzyży. Według Niej zwierzęta najbardziej narażone na stres nie powinny być strzyżone na samym początku. Dotyczy to między innymi samic, u których zarejestrowano zarówno większy poziom kortyzolu jak i większą ogólną liczbę zachowań w porównaniu do samców. Cenną informacją, jaką uzyskała Doktorantka w swoich badaniach jest związek pomiędzy dystansem ucieczki a próbami ucieczki i wokalizacją w trakcie strzyży. Pani mgr Joanna Kapustka bardzo trafnie zauważa, iż alpaki bardziej odważne, mogą lepiej radzić sobie ze stresem manifestując zachowania awersyjne, jednak podkreśla potrzebę dalszych badań w tym zakresie, co świadczy o Jej dużej dojrzałości jako badacza.

W drugim etapie badań składających się na dysertację Doktorantka podjęła się przeprowadzenia trudnej do interpretacji, po raz pierwszy, co zasługuje na szczególne podkreślenie, wykonywanej na wełnie alpaki oceny poziomu kortyzolu jako nieinwazyjnego sposobu określenia stresu długofalowego. Zróżnicowanie zawartości tego hormonu Autorka odnotowała w zależności od miejsca na ciele zwierzęcia i badanego segmentu włosa. Większym poziomem kortyzolu charakteryzowała się nasada ogona aniżeli łopatka oraz segment dystalny w porównaniu do proksymalnego. Wyższy poziom tego związku zawierała wełna u osobników starszych i płci męskiej. Interpretując uzyskane wyniki Doktorantka powiązała je ze zmianami klimatycznymi występującymi w ciągu roku, wykorzystując do tego celu indeks stresu cieplnego HSI opracowanego przez Jones i Boileau (2009). Sugestię wskazaną przez Autorkę, iż strzyżenie alpaki przed okresem letnim może zmniejszyć odczuwanie przez nich stresu cieplnego należy traktować w sposób dyskusyjny. Na złożoność procesu odkładania kortyzolu

we włóknie oraz wpływ warunków środowiskowych na jego zawartość w czasie odrastania wełny Autorka bardzo umiejętnie zwraca uwagę w dyskusji tego etapu badań. Można jedynie dodać, że uzyskane wyniki mogą być doskonałą podstawą do dalszych poszukiwań w tym zakresie.

W trzecim etapie badań Autorka poszerzyła ocenę reakcji behawioralnych i poziomu wskaźników neuroendokrynnych o okres przed strzyżą i po strzyży. Obserwowane zachowania podczas wykonywania strzyży tym razem na stojąco tj. wrzeszczenie czy próby ucieczki były ujemnie skorelowane z muczeniem, wskaźnikiem dyskomfortu u alpak, oraz zachowaniami społecznymi odnotowanymi przed i po strzyży. Zdaniem Doktorantki ogólna aktywność behawioralna obserwowana na co dzień nie jest związana z intensywnością reakcji behawioralnych zwierzęcia w poczuciu zagrożenia, jakim w tym przypadku była strzyża. Chociaż uzyskane wyniki mogą wskazywać, iż mocniejsze reagowanie na stres może pozytywnie wpłynąć na zmniejszenie jego skutków po ustąpieniu. Ważnym elementem w tym etapie badań było określenie przez Doktorantkę zależności pomiędzy wskaźnikami behawioralnymi a innymi niż kortyzol wskaźnikami neuroendokrynnymi. Tego typu badania nie należą do łatwych, zwłaszcza, że dotyczą gatunku bardzo mało poznanego w Polsce, przez co tym bardziej zasługują na uznanie. Brak tego typu badań na alpakach, brak opracowań wartości referencyjnych analizowanych wskaźników nakazywał ostrożność w interpretowaniu wyników i pozwalał jedynie na odnoszenie ich do innych gatunków zwierząt. Autorka znakomicie potrafiła uzyskać korelacje pomiędzy kortyzolem, serotoniną i noradrenaliną powiązać z udziałem tych wskaźników w mechanizmach regulujących, widocznych dla hodowcy, zachowania zwierząt, co może być pomoce w prowadzeniu stada.

W rozdziale „Stwierdzenia i wnioski” Autorka w 7 punktach podsumowała wszystkie etapy przeprowadzonych badań, które odzwierciedlają założenia i postawione cele. Dodatkowo w podsumowaniu Doktorantka podkreśliła ich znaczenie aplikacyjne, zwracając uwagę na te elementy, które mogą pomóc hodowcom, lepiej zrozumieć behavior tych egzotycznych zwierząt, a badaczom wybrać właściwe parametry do jego oznaczenia.

Podsumowując tę część oceny stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Joanny Kapustki stanowi zwartą całość badań dających odpowiedź na wiele kwestii dotyczących analizy zachowania alpak, a w szczególności ich reakcji na stres, wywołany strzyżą i warunkami środowiskowymi, określanymi wskaźnikami behawioralnymi i neuroendokrynnymi. Przedstawione badania są nowatorskie, oryginalne i pierwsze, których wyniki mogą być wykorzystane przez hodowców w praktyce, jak również stanowić punkt

wyjścia do podejmowania kolejnych doświadczeń na tych mało poznanych w Polsce zwierzętach.

Uwagi recenzenta

W końcowej części recenzji pragnę zwrócić uwagę na niektóre kwestie, które nasunęły mi się w trakcie czytania pracy nie w charakterze zarzutów, a raczej pytań i sugestii do rozważenia w podejmowaniu przyszłych badań:

- W pracy użyto sformułowania „warunki utrzymywania alpak w gospodarstwie są typowe dla stad europejskich”. Czy istnieją opracowane normy odnośnie warunków utrzymania tych zwierząt tak w pomieszczeniach jak i na pastwisku/wybiegu specjalnie dla regionu Europy. Czy normy te, są inne dla kontynentu południowoamerykańskiego i czy są przygotowywane jakieś zalecenia w tym zakresie dla hodowców alpak w naszym kraju ?

- Czym się kierowano wyznaczając do badań poziomu kortyzolu w wełnie dwa miejsca na ciele zwierzęcia: łopatkę i nasadę ogona? W analizach dotyczących oceny jakości wełny wyznacza się kilka miejsc, ze szczególnym zwróceniem uwagi na bok. Liczne badania dowiodły, iż to właśnie środek boku jest miejscem reprezentatywnym, przynajmniej w ocenie wełny, zatem może to miejsce jest także reprezentatywne do określenia innych parametrów, w tym również kortyzolu. Jest to sugestia do rozważenia w planowaniu dalszych badań.

- Czy strzyża w roku poprzedzającym (2020) badania wykonywane w etapie drugim była wykonywana w podobnym okresie? Jakie konkretnie miesiące odrastania wełny zaliczono do okresu letniego, a jakie do zimowego? Może przy założeniu, że włos przyrasta średnio 1 cm na miesiąc lepiej byłoby dokonać podziału pobranej próby wełny zgodnie z tą zasadą, a nie dzielić ją na dwie równe części. Oczywiście pozostawiam to do dyskusji i rozważenia podobnie jak i sugestię wskazaną wyżej.

- Moim zdaniem zalecanie wykonywania strzyży alpak przed nadejściem upałów z uwagi na odczuwanie stresu cieplnego może być dyskusyjne. Budowa okrywy włosowej zwierząt często pomaga im w przystosowywaniu się do panujących warunków klimatycznych.

- Przeprowadzone badania jak najbardziej upoważniają do wskazywania strzyży na stojąco jako mniej stresującej dla zwierzęcia, chociaż sugerowałabym jako interesujące przeprowadzenie w przyszłości badań porównujących dwie metody: na stojąco i leżąc w tym samym czasie w jednym stadzie.

Przedstawione wyżej pytania i uwagi w żaden sposób nie wpływają na moją wysoką ocenę rozprawy doktorskiej.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Joanny Kapustki pod wspólnym tytułem „Wykorzystanie wskaźników behawioralnych i neuroendokrynnych do oceny stresu u alpaka (*Vicugna pacos*)” posiada wysokie walory naukowe i aplikacyjne, może być także inspiracją dla innych badaczy. Należy podkreślić duży wkład Doktorantki podczas wykonywania badań, precyzyjność przy opracowywaniu wyników do opublikowania, na co wskazują prace składające się na rozprawę doktorską opublikowane w renomowanych czasopismach z listy JCR. Badania te zostały poprzedzone gruntowną wiedzą zdobytą przez Doktorantkę w zakresie behawioru alpaka i doskonałym opanowaniem warsztatu badawczego. Stanowią one nie tylko istotny wkład w rozwój dyscypliny zootechniki i rybactwo ale i rozwój hodowli tych mało poznanych zwierząt w Polsce. Doktorantka w pełni sprostała wymaganiom stawianym kandydatom ubiegającym się o tytuł doktora.

Reasumując uważam, że rozprawa doktorska mgr inż. Joanny Kapustki spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim, określone w art.187 ust.1 i 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.). W związku z powyższym występuję do Wysockiej Rady Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z wnioskiem o dopuszczenie mgr Joanny Kapustki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę całość prac badawczych, nowatorskość badań oraz szeroką wiedzę i doświadczenie Doktorantki, wnioskuję do Wysockiej Rady Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Joanny Kapustki.

Wersowice 24 kwietnia 2025



