

dr hab. inż. Jadwiga Topczewska, prof. UR
Katedra Produkcji Zwierzęcej i Oceny Produktów Drobiarskich
Wydział Technologiczno-Przyrodniczy
Uniwersytet Rzeszowski

Rzeszów, 05.05.2025

Recenzja

Rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Joanny Kapustka pt. Wykorzystanie wskaźników behawioralnych i neuroendokrynnych do oceny stresu u alpaka (*Vicugna pacos*)
Praca doktorska została wykonana w Katedrze Etologii Zwierząt i Łowiectwa Wydziału Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, pod kierunkiem dr hab. Moniki Budzyńskiej

Podstawa prawna

Ocenę rozprawy wykonano na wniosek prof. dr hab. Brygidy Ślaskiej z dnia 01.04.2025r. (NE.5200.3.2.2025), Przewodniczącej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo na Wydziale Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, zgodnie z wymogami określonymi w art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2024., poz. 1571 z późn. zm.). Przedstawiona do oceny praca spełnia wymagania formalne określone w w/w przepisach.

Alpaka (*Vicugna pacos*) należy do rodziny wielbłądowatych, rodzaju *Vicugna*. Gatunek ten pochodzi z Ameryki Południowej, a jego cechy kształtowało środowisko górskie, alpaki bytowały bowiem na wysokościach 4000 m n.p.m. i więcej. Wykazują zdolność do adaptacji do cieplejszego klimatu. Potrafią dostosować temperaturę swojego ciała do zakresu temperatur otoczenia i regulować ją poprzez „okna termiczne”. Użytkowane są w kierunku pozyskania wełny, a zabieg strzyżenia pozwala na zmniejszenie stresu termicznego. Od kilkunastu lat wzrasta ich popularność w krajach europejskich, a tym samym także ich populacja. Od 2021 roku alpaki są wpisane na listę zwierząt gospodarskich w Polsce (Dz. U. 2021 poz. 36), a od 2024 roku wszystkich właścicieli alpaka w Polsce obowiązuje wpis do rejestru ich i identyfikacja w Agencji Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa. Zrozumienie zachowania alpaka, w tym zachowań związanych ze strzyżeniem, jest niezbędne do zarządzania stadem, zwłaszcza w odniesieniu do zachowania dobrostanu zwierząt. Analiza behawioru jest jednym z elementów zdobywania wiedzy dotyczącej danego gatunku zwierząt. Podstawowym źródłem informacji o zachowaniach i budzie czasowym jest etogram. Jednak liczba badań

dotyczących behawioru alpak jest stosunkowo niewielka w porównaniu do innych gatunków zwierząt utrzymywanych przez człowieka. Mimo sugestii dotyczących wykorzystania tego gatunku do animaloterapii, umiejętność odczytywania sygnałów wysyłanych przez alpaki jest ograniczona. Oprócz sygnałów ostrzegawczych, jak położenie uszu, podniesienie głowy do góry i podniesienie ogona, typowe są wokalizacje (muczenie i wrzeszczenie), które często obserwowane jest w trakcie strzyży.

Problematyka przedstawionej rozprawy doktorskiej dotyczy analizy wskaźników behawioralnych oraz neuroendokrynnych wykorzystywanych do oceny stresu u alpak (*Vicugna pacos*). Celem głównym cyklu publikacji wchodzących w skład rozprawy było określenie, które wskaźniki mogą być wykorzystywane do oceny stresu u alpak. Oceniana rozprawa doktorska ma formę jednotematycznego cyklu trzech publikacji pod wspólnym tytułem „Wykorzystanie wskaźników behawioralnych i neuroendokrynnych do oceny stresu u alpak (*Vicugna pacos*)”. Prace cyklu zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych: Journal of Veterinary Behaviour (MEiN = 100pkt, IF = 1,3), General and Comparative Endocrinology (MEiN = 100pkt, IF = 2,1), Small Ruminant Research (MEiN = 100pkt, IF = 1,6). Sumaryczny IF prac wchodzących w cykl publikacji powiązanych tematycznie wynosi 5,0; natomiast liczba pkt. MEiN zgodnie z rokiem opublikowania prac wynosi 300. Publikacje są wieloautorskie, przy czym w dwóch pracach Pani mgr inż. Joanna Kapustka jest pierwszym, w jednej pracy drugim autorem. Udział Doktorantki wynosi w pierwszej pracy 70%, drugiej 55% i w trzeciej 45%. Indywidualny wkład Doktorantki polegał na opracowaniu koncepcji, założeniach metodologicznych, zaplanowaniu i przeprowadzeniu doświadczeń, gromadzeniu danych i analizie wyników, redagowaniu manuskryptu, dyskusji a także korekcie po recenzjach. Artykuły stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Kapustka zostały przygotowane zgodnie ze standardami publikacji naukowych. Ich wartość merytoryczna została zweryfikowana przez recenzentów w trakcie przygotowywania publikacji.

Wskazane przez Panią mgr inż. Joannę Kapustka cele szczegółowe prowadzonych badań obejmują:

- ocenę interakcji człowiek-zwierzę na podstawie dystansu ucieczki, określanego podczas zbliżania się do alpak na pastwisku oraz reakcji behawioralnych i stężenia kortyzolu w ślinie podczas strzyżenia;
- ocenę wpływu miejsca pobrania z ciała alpak oraz wieku segmentu włosa, płci a także wieku alpak na stężenie kortyzolu w wełnie;

- ocenę zachowania alpak oraz stężenia wybranych wskaźników we krwi (kortyzolu, dopaminy, noradrenaliny, serotoniny i tyroksyny) przed stryżeniem, w dniu stryżenia oraz po 5 i 10 dniach od stryżenia.

Pani mgr inż. Joanna Kapustka założyła następujące hipotezy badawcze:

H1 – stryżenie jest stresującym zabiegiem dla alpak, wywołującym zarówno zmiany w behawiorze podczas stryżenia jak i po niej, a także we wskaźnikach neuroendokrynych analizowanych w ślinie (kortyzol) oraz we krwi (kortyzol, noradrenalina, serotonina, tyroksyna, dopamina),

H2 – w aspekcie stresu długotrwałego poziom kortyzolu w wełnie jest różny względem okresów w roku, jako wymiar reakcji zwierzęcia na zmieniające się warunki środowiskowe.

Dysertacja została zaprezentowana w obszernym, ponad 50 stronicowym opracowaniu, na wzór klasycznej monografii, zawierającej wszystkie elementy pracy badawczej. Zawiera spis, wykaz skrótów użytych w rozprawie, streszczenie w języku polskim oraz w języku angielskim, wstęp wprowadzający w badaną problematykę, cel i hipotezy badawcze, materiał i metody, omówienie wyników badań oraz dyskusję. Całość zakończona została stwierdzeniami i wnioskami oraz wykazem piśmiennictwa. Wykorzystano obszerne piśmiennictwo w liczbie 122 pozycji. Uzupełnienie stanowią załączone publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej wraz z oświadczeniami współautorów publikacji. Rozprawa doktorska w przedstawionej formie jest bardzo dobrze przygotowana i spełnia wymagania ustawowe.

Rozdział Wstęp zawiera rzeczowe uzasadnienie konieczności podjęcia badań określonych w celu pracy. Został przygotowany w oparciu o właściwie dobrane piśmiennictwo. Podkreślono znaczenie behawioru w aspekcie pogłębiania wiedzy o gatunku, co ma ogromne znaczenie zwłaszcza w aspekcie nawiązywania relacji z człowiekiem podczas użytkowania alpak. Podkreślono znaczenie odwracania poszczególnych części ciała, a także szkolenie oparte na pozytywnym wzmocnieniu, co w konsekwencji ma znaczenie dla dobrostanu alpak. Jednym z podstawowych testów wykorzystywanych do oceny relacji człowiek – zwierzę jest weryfikacja reakcji na człowieka, w którym określa się tzw. dystans ucieczki. Zabiegi pielęgnacyjne, odłączanie od stada, zabieg stryżenia mogą być źródłem stresu dla alpak. Dlatego dodatkowym narzędziem badawczym w ocenie występowania stresu mogą być katecholaminy i glikokortykoidy. Dodatkowo w regulacji reakcji stresowej biorą udział substancje neuroendokryne. Z tej części opracowania jasno wynika, dlaczego Doktorantka podjęła się przeprowadzenia badań w zakresie określonym w celu i postawionych hipotezach badawczych.

W rozdziale Materiał i metody wyodrębniono podrozdziały, co zapewniło przejrzystość rozdziału. Populacja była zróżnicowana pod względem wieku i płci. Badania przeprowadzono na łącznie 90 alpakach, w tym 42 samcach i 48 samicach. Badania zostały zrealizowane w trzech etapach. Kierunek użytkowania alpak uczestniczących w badaniu to produkcja wełny. Poszczególne etapy badań zostały szczegółowo zaprezentowane wraz z opisem schematów i testów, sposobu pobierania materiału biologicznego do badań (ślina, wełna, krew), wykonania oznaczeń w pobranym materiale, oceny reakcji behawioralnych (wraz z opisem obserwowanych zachowań alpak w kolejnych etapach badań) oraz analiz statystycznych.

Rozdział Wyniki został precyzyjnie podzielony na podrozdziały zgodnie z realizowanymi etapami badań. Zostały uporządkowane zgodnie z kolejnymi publikacjami wchodzącymi w skład rozprawy doktorskiej.

Cykl publikacji stanowi zbiór wyników kompleksowych badań, pozwalających na poszerzenie wiedzy z zakresu wykorzystania różnych wskaźników do oceny stresu u alpak (*Vicugna pacos*). W pierwszej pracy, „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>), dokonano oceny dystansu ucieczki oraz reakcji behawioralnych i fizjologicznych podczas strzyży alpak. Wyniki zaprezentowano w jednej tabeli i na czterech rycinach. Przeprowadzone badania nie wykazały, aby krótszy dystans ucieczki wiązał się z mniej intensywną reakcją na stres podczas strzyżenia. Zwierzęta wykazujące krótszy dystans ucieczki w stosunku do znajomej osoby, wykazywały więcej prób ucieczki i częściej wokalizowały podczas strzyżenia. Wyraźny wzrost poziomu kortyzolu oznaczonego w ślinie potwierdził, że dla alpak strzyżenie jest stresującym doświadczeniem. Jednak im później w kolejności wykonywano strzyżenie, tym niższy był poziom kortyzolu. Wykonywanie strzyżenia metodą na stojąco wywołało ostry stres behawioralny u alpak, jednak nie był on powiązany z ich większą reaktywnością behawioralną w okresach przed i po zabiegu strzyży. Potwierdzono, że określenie poziomu kortyzolu w ślinie może być przydatne do oceny stresu ostrego u alpak.

W drugiej pracy wchodzącej w skład cyklu, „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>), dokonano oceny poziomu kortyzolu w wełnie. Przyjęto trzy hipotezy: 1) stężenie kortyzolu w wybranych okolicach ciała jest różne, 2) stężenie kortyzolu jest różne w proksymalnych i dystalnych segmentach wełny alpak, 3) stężenie kortyzolu jest zmienne i zależy od wieku i płci badanych zwierząt. Wyniki zaprezentowano na 3 rycinach. Różnice w poziomie kortyzolu w wełnie były związane

z segmentem włosa oraz miejscem pobrania na ciele alpaki ale również z wiekiem i płcią. Wykazano, że oznaczenie kortyzolu w wełnie alpak może być nieinwazyjną metodą oceny poziomu stresu w ujęciu długoterminowym. Hormon ten wykazuje zmienność w zależności od miejsca pobrania na ciele, segmentu włosa, wieku i płci zwierząt, na co warto zwrócić uwagę przy pobieraniu próbek wełny do badań.

W trzeciej pracy pt. „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>) dokonano oceny reakcji behawioralnych i poziomu wskaźników neuroendokrynnych alpak na procedury związane ze stryżeniem. Czas trwania zachowań alpak przed i po stryżu zaprezentowano w tabeli, natomiast korelacje między wskaźnikami behawioralnymi w poszczególnych dniach badania na wykresach. Zmiany poziomu oznaczonych we krwi wskaźników, tj. dopaminy, noradrenaliny, kortyzolu, serotoniny, tyroksyny w poszczególnych etapach badania przedstawiono na wykresach. Stwierdzono, że wzrost poziomu noradrenaliny i spadek poziomu tyroksyny można uznać za objawy stresu średnioterminowego u alpak. Korelacje pomiędzy poziomem kortyzolu, serotoniny i noradrenaliny, a wybranymi zachowaniami mogą wskazywać na ich udział w mechanizmach regulacji zachowania alpak. Podobnie zależności pomiędzy wskaźnikami behawioralnymi a neuroendokrynnymi oraz kolejnością i czasem stryżenia zaprezentowano na wykresach. Wszystkie zachowania obserwowane w trakcie stryży korelowały istotnie z kolejnością stryżenia. Doktorantka stwierdziła ponadto, że im później w kolejności alpaki były stryżone, tym więcej wokalizowały i pluły.

W rozdziale Dyskusja został powtórzony układ podrozdziałów odpowiednio jak w rozdziałach Materiał i metody oraz Wyniki, co potwierdza doskonały warsztat Doktorantki i umiejętność prezentowania uzyskanych wyników w powiązaniu z przeprowadzeniem merytorycznej dyskusji. Pani mgr inż. Joanna Kapustka obszernie skonfrontowała uzyskane w badaniach własnych wyniki z literaturą. Rozdział ten oceniam bardzo wysoko ze względu na czytelność, precyzję oraz swobodę w omawianych zagadnieniach.

Podsumowując wyniki badań jednotematycznego cyklu trzech publikacji pod wspólnym tytułem „Wykorzystanie wskaźników behawioralnych i neuroendokrynnych do oceny stresu u alpak (*Vicugna pacos*)” stwierdzono, że analiza behawioru i wybranych wskaźników neuroendokrynnych jest przydatna do oceny reakcji stresowych alpak. Stryżna stanowi stresujące doświadczenie dla zwierząt. Na podstawie uzyskanych wyników można sugerować hodowcom, aby oswojone z ludźmi alpaki były stryżone na stojąco. Istotna jest również kolejność stryży, ponieważ zwierzęta te z czasem adaptują się do stresujących sytuacji. Aby

nie narażać osobników podatnych na silny stres, należy strzyc je w dalszej kolejności stawki zwierząt. Zachowania takie jak wokalizacje (muczenie, wrzeszczenie), próby ucieczki i plucie mogą być wykorzystywane do oceny stresu ostrego u alpak. Analiza kortyzolu w ślinie może być wykorzystana do określenia stresu ostrego, a jego poziom w wełnie alpak może być wskaźnikiem stresu długoterminowego. Warto podkreślić, że wyniki badań mają znaczenie aplikacyjne. Na podkreślenie zasługuje fakt, że oznaczenie poziomu kortyzolu w wełnie alpak stanowi pierwsze badanie, co dodatkowo wymagało dostosowania metodologii.

Przedstawiony cykl publikacji jest spójny tematycznie, odpowiada tytułowi pracy i odnosi się do szczegółowych celów, co było podstawą do weryfikacji hipotez badawczych. Rozprawa jest napisana starannie, poprawnym językiem. Ryciny i tabele są przejrzyste i czytelne. Materiały zostały przygotowane przejrzysto i w sposób umożliwiający właściwą i pełną ocenę oraz zapoznanie się z istotą rozprawy doktorskiej.

Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska mgr inż. Joanny Kapustka pt. Wykorzystanie wskaźników behawioralnych i neuroendokrynnych do oceny stresu u alpak (*Vicugna pacos*)", oparta o jednotematyczny cykl publikacji w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 roku (tj. Dz. U. z 2024 r., poz. 1571 z późn. zm.). W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z wnioskiem o dopuszczenie mgr inż. Joanny Kapustka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, z uwagi na ogrom pracy, jaki Doktorantka włożyła w pozyskanie materiału badawczego, wykonanie licznych analiz a zwłaszcza innowacyjność badań i wysoką ich wartość aplikacyjną wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr inż. Joanny Kapustka.

Wojciech