

Lublin, 04.09.2020

prof. dr hab. Andrzej Junkuszew  
Instytut Hodowli Zwierząt i Ochrony Bioróżnorodności  
Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

### **Recenzja**

**pracy doktorskiej mgr Pauliny Cholewińskiej pt.: „Ocena wpływu wybranych czynników na mikrobiom przeżuwaczy” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Witolda Ranta w Zakładzie Hodowli Owiec i Zwierząt Futerkowych Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu**

Jedną z wielu zalet przeżuwaczy wyróżniających je z pośród innych zwierząt jest duża możliwość przetwarzania pasz o niskiej wartości w produkty odznaczające się wysokimi walorami odżywczymi. Elastyczność jaką charakteryzują się przeżuwacze w odniesieniu do pokarmu jaki spożywają pozwoliła im na zasiedlenie wielu różnych siedlisk obejmujących szeroki zakres klimatyczny. Należy podkreślić, że powyższe możliwości wynikają ze specyficznego mikrobiomu zasiedlającego układ pokarmowy przeżuwaczy. Poznanie czynników jakie na niego mają wpływ jest w ostatnich latach celem badań prowadzonych w wielu światowych ośrodkach naukowych. Niestety większość badań prowadzonych jest na bydle natomiast obserwacji dotyczących małych przeżuwaczy jest stosunkowo niewiele. Dokładne poznanie składu mikrobiomu oraz roli jaką odgrywa w procesach zachodzących w układzie pokarmowym, daje nadzieję by w przyszłości lepiej wykorzystywać możliwości zwierząt, zadbać o ich zdrowie a w konsekwencji poprawić ich produktywność oraz jakość wytwarzanych przez nie produktów. Z tego też względu uważam za celowe podjęcie przez Autorkę badań mających na celu ocenę wpływu wybranych czynników na mikrobiom przeżuwaczy.

Przedstawiona do oceny praca doktorska liczy 102 strony. Została napisana w typowym dla tego typu opracowań układzie składającym się z dziewięciu rozdziałów: 1. Wprowadzenie, 2. Cel pracy, 3. Materiał i metody, 4. Wyniki, 5. Dyskusja, 6. Wnioski, 7. Literatura, 8. Spis rycin i fotografii, 9. Spis wykresów i tabel. W niniejszej pracy zawarto 12

tabel, 28 wykresów, 7 rycin oraz 6 fotografii. Oprócz wymienionych rozdziałów Autorka zawarła w pracy streszczenia w języku polskim i angielskim.

Streszczenie pracy zarówno w języku polskim jak i angielskim zawiera wszystkie niezbędne informacje dotyczące omawianej pracy. Stanowi syntetyczny zapis dotyczący celu pracy, zastosowanych metod badawczych oraz uzyskanych wyników, na podstawie których wyciągnięto wnioski.

Pierwszym rozdziałem dysertacji jest „Wprowadzenie”. Jest on przejrzysto napisany i stanowi dobre wprowadzenie czytelnika w zagadnienia zawarte w pracy.

W omawianym rozdziale Autorka przedstawia obecny stan wiedzy dotyczący tematów objętych obserwacjami. Należy podkreślić duży wkład pracy jaki musiała poświęcić Autorka do napisania tego rozdziału. Bardzo szerokie ujęcie tematu wymaga bowiem dużego odczytania oraz znajomości wielu zagadnień. Wszystkie zawarte w tym rozdziale informacje są czytelnie i logicznie połączone, tworząc spójną całość, która w wystarczający sposób wprowadza czytelnika w zakres problematyki objętej badaniami. Rozdział ten jest niewątpliwie najlepiej napisanym elementem przedstawionej do oceny pracy. Czytając wprowadzenie można zauważyć, że Autorka posiada doświadczenie w pisaniu tego typu opracowań, które zdobyła podczas pisania prac przeglądowych. Warto podkreślić, że wspomniane prace przeglądowe ukazały się w wiodących światowych czasopismach naukowych. Drobnie nieścisłości oraz błędy stylistyczne, których niestety nie udało się uniknąć w pracy, nie stanowią podstawy do obniżenia wysokiej oceny tego rozdziału. Sugestie dotyczące możliwości ich korekty w przygotowywanej w przyszłości do druku pracy, zostały zawarte w tekście, który został przekazany Autorce. Mam nadzieję, że może być on pomocny w przygotowywaniu publikacji do druku.

Kolejnym przedstawionym do oceny pracy rozdziałem jest „Cel pracy”. Rozdział ten zawiera krótkie wprowadzenie do pracy oraz główny cel pracy. Autorka wskazuje, że „*Celem niniejszej pracy była ocena składu mikrobiologicznego układu pokarmowego owiec uwzględniając zachodzące w nim zmiany związane z żywieniem, wzrostem i rozwojem jagniąt, zmiennością osobniczą oraz rasą.*”. Jednak czytając pracę wydaje się, że głównym celem pracy była ocena wpływu wybranych czynników takich jak: rasa, wiek jagniąt czy dni laktacji etc. na mikrobiom owiec. Z obowiązku recenzenta chciałbym zwrócić uwagę, że w celu pracy nie powinno się podawać co się zrobiło tylko jaki jest cel pracy czyli co chcemy zbadać. We wprowadzeniu do celu pracy Autorka wskazuje, że „skład mikrobiomu, poza wpływem na wskaźniki produkcyjne, oddziałuje także na stan zdrowotny zwierząt oraz ich prawidłowy rozwój”. Jest to niewątpliwie słuszne, jednak uważam, że należy odwrócić

kolejność, ponieważ to mikrobiom wpływa na stan zdrowotny, wzrost i rozwój zwierząt czego konsekwencją są zmiany w produktywności. Powyższe uwagi należy traktować jako techniczne, jednak są one istotne dla oceniających prace naukowe.

Rozdział „Materiał i metody” – badania wykonano w dwóch etapach, pierwszy mający na celu ocenę zmian mikrobiomu owiec matek w kolejnych dniach laktacji oraz ich potomstwa podczas okresu odchowu. Natomiast w drugim etapie badań odpowiadano na pytanie czy istnieje wpływ rasy na poziom mikrobiomu u jagniąt. W mojej ocenie liczebność materiału badawczego jest wystarczająca i umożliwia realizację celu pracy.

Jednak po przeczytaniu rozdziału „Materiał i metody” nasuwają mi się pewne uwagi oraz pytania. Autorka charakteryzując materiał zwierzęcy podaje, że owce olkulskie są rasą plenno-mięsną o budowie typowo mlecznych zwierząt. Myślę, że wkradł się tutaj błąd i chodziło raczej o użytkowość plenną ewentualnie plenno – mleczną.

Na zakończenie podrozdziału „Materiał zwierzęcy” Doktorantka podaje, że „*badania zostały przeprowadzone w roku 2017 na 10 sztukach matek, które urodziły bliźnięta. Głównym kryterium wyboru był bardzo dobry stan zdrowia matek i ich jagniąt, łatwość porodów*”. Jednak analizując dalsze rozdziały pracy można zauważyć, że badania przeprowadzono zarówno na owcach matkach (10 sztuk) oraz ich potomstwie (10 par bliźnięt czyli 20 jagniątach). Warto więc podkreślić w tekście pracy, że w doświadczeniu brało udział 20 jagniąt. Także wyrażenie *bardzo dobry stan zdrowia* nasuwa pytanie na podstawie jakich badań to stwierdzono. W mojej opinii bezpieczniejszym jest użycie sformułowania, że zwierzęta nie wykazywały objawów chorobowych. Czytając pracę nasuwa się pytanie - czy stwierdzenie *łatwość porodów*, dotyczy braku komplikacji przy porodzie oraz czy to kryterium dotyczy tylko wykotu w 2017 r., czy też wszystkich wykotów zakwalifikowanej do eksperymentu maciorki.

Proszę o doprecyzowanie podanych w podrozdziale „System utrzymania i żywienia” informacji: czy jagnięta przebywały wraz z matkami przez cały okres doświadczenia oraz jak i od kiedy jagnięta były dokarmiane paszami stałymi.

Czy próby kału pobierano indywidualnie od każdej sztuki?, Myślę, że tak, ale w przygotowywanej pracy do druku warto to podkreślić.

W podrozdziale opisującym metody oceny kondycji Autorka podaje, że kondycję oceniano w 0, 28, 42 oraz 56 dniu, brakuje natomiast oceny w 14 dniu od wykotu, a taką ocenę przeprowadzono, co wynika z tekstu pracy.

Czy analiza pasz wykonana była jednorazowo podczas doświadczenia?



W przygotowywanej pracy do druku wartym podania są informacje wg jakich norm zostały wykonane poszczególne analizy składników paszy.

W całej pracy Autorka używa stwierdzenia „*rozwój masy ciała jagniąt*”. Nie jest to jednak prawidłowe określenie, w takich przypadkach lepiej jest używać w zależności od kontekstu pracy określenia wzrost zwierząt bądź zmiana masy ciała.

W opisie materiałów i metod zastosowanych w drugim etapie doświadczenia warto zamieścić informację, czy tucz jagniąt prowadzony był do określonej masy ciała czy przez okres dokładnie trzech miesięcy. Myślę, że istotną informacją pozwalającą na lepszą interpretację wyników byłoby podanie dni tuczu. Podobnie jak w poprzednim etapie określenie „*osobniki o bardzo dobrym stanie zdrowia, bez objawów chorobowych tj. biegunka*” wystarczy zastąpić bez objawów biegunki lub bez objawów chorobowych.

Nieścista jest informacja podana przez Autorkę dotycząca ras wykorzystanych podczas drugiego etapu eksperymentu „*wybrane rasy różniły się między sobą zarówno pod względem użytkowości jak i pochodzenia – rasy rodzime (polskie) i z importu, jednakże wszystkie owce biorące udział w doświadczeniu zostały urodzone na terenie Polski*”.

Jeżeli wszystkie owce zostały urodzone i utrzymywane w Polsce, a co ważne w kontekście doświadczenia przez cały okres tuczu przebywały w ujednoliconych warunkach w Stacji Oceny Tryków, to informacja dotycząca pochodzenia stada jest w tym przypadku nieistotna.

W rozdziale pt. „Wyniki” Doktorantka przedstawia uzyskane rezultaty badań w postaci wykresów i tabel. Pokazanie wyników doświadczenia w formie graficznej jest niewątpliwie w mojej ocenie dużym ułatwieniem w interpretacji wyników przez czytelnika.

Niestety, Doktorantka nie ustrzegła się błędów pisząc ten rozdział pracy. W kilku miejscach nie zgadza się w tekście numeracja tabel i wykresów, a w wielu przypadkach po prostu jest jej brak, co utrudnia czytanie pracy. Wszystkie uwagi natury technicznej zaznaczyłem w pracy. Mam nadzieję, że podczas przygotowywania pracy do druku będą one pomocne i pozwolą osiągnąć Autorce sukces wydawniczy. Na stronie 48 podano, że „*Kolejne statystycznie istotne obniżenie tempa rozwoju masy ciała jagniąt miało miejsce pomiędzy 42 a 56 dniem życia, w czasie gdy nastąpiła zmiana diety związana z ich wyjściem na pastwisko i zaprzestaniem podawania wysłodków buraczanych i lubinu.*” Myślę, że ten wniosek jest trochę na wyrost w przypadku jagniąt. Należy zwrócić uwagę, że jagnięta w tym okresie z reguły przebywają jeszcze z matkami korzystając z ich mleka, a z reguły spadek masy ciała jako skutek całkowitego przejścia na pasze stałe oraz stresu związanego z odłączeniem następuje po odsadzeniu jagniąt od matek. W tym przypadku zaistniała sytuacja mogła być

spowodowana innymi czynnikami mogącymi wpływać na mikrobiom jagniąt, poszukiwanie przyczyn spadku masy ciała może być interesującym tematem badań, który mam nadzieję podejmie Doktorantka w przyszłości. Mam także pytanie: czy rzeczywiście jagnięta były żywione wysłodkami i łubinem w okresie do 42. dnia życia?

Podczas opisu statystycznie istotnych różnic na poziomie  $P < 0,01$  Autorka stosuje oznaczenie małymi literami, natomiast wielkimi literami na poziomie  $P < 0,05$ . W większości prac stosuje się odwrotne oznaczenie wspomnianych istotności. Także pod wykresami zabrakło informacji, pomiędzy którymi cechami oznaczono statystyczne różnice, między innymi na wykresie 4, gdzie dopiero po gruntownej analizie można się domyślić, czy oznaczone różnice są pomiędzy gromadami bakterii czy też pomiędzy ich ilością w analizowanych dniach doświadczenia.

Na stronie 53 Autorka podaje, że „*Poziom RNE w przypadku gromady Firmicutes utrzymywał się na podobnym poziomie u jagniąt i matek do dnia 28. po porodzie, aczkolwiek w dniu 0. zaobserwowano tendencję wzrostową u jagniąt w porównaniu do matek*”. Jest to niefortunne sformułowanie, ponieważ wzrost następuje zawsze „do przodu”, natomiast w tym przypadku możemy raczej mówić o spadku poziomu wartości w porównaniu do dnia 0.

Na stronie 61 Autorka podaje, że „*Z uwagi na to, że bliźnięta pochodzące od jednej matki różniły się między sobą nieznacznie poziomem badanych gromad zestawienie wykonano dla poszczególnych par bliźniąt*”. Mam pytanie: czy „zestawienie”, a raczej uzyskane wyniki w odniesieniu do bliźniąt są średnią dla każdej pary rodzeństwa, czy też wynikami obserwacji jednego z jagnięcia z pary?

Na stronie 65 podano, że „*korelacje pomiędzy mikrobiomem matek a udziałem poszczególnych gromad bakterii u ich jagniąt (Tab.9) nie wykazały w znakomitej większości statystycznie istotnego związku liniowego*”. Chyba chodzi raczej o statystycznie istotne zależności pomiędzy mikrobiomem matek a jagniąt.

Tabela 9 na stronie 69. prezentuje wyniki korelacji pomiędzy wybranymi składnikami mleka matek a mikrobiomem jagniąt. Proszę wyjaśnić w jaki sposób wyliczony był skład mleka za cały okres laktacji (od 0 do 56. dnia laktacji). Czy jest to średnia ze wszystkich pomiarów wykonanych w 0, 28 oraz 56 dniu laktacji.

Tabela 10 na stronie 70 – czy podane w tabeli wyliczenia zostały wykonane dla poszczególnych okresów analogicznie jak w tabeli 9? Jeżeli tak, to należy podać to w tabeli.

Rozdział 9 pracy pt. Wnioski proponuje nazwać „Podsumowanie i wnioski” . Uważam, że można usunąć z pracy wniosek 3 – „*Mikrobiota układu pokarmowego owiec i*



*bydła jest stosunkowo do siebie podobna, co wykazało porównanie z literaturą.*”, ponieważ nie było to przedmiotem badań w niniejszej pracy.

Rozdział 7 pt. „Literatura” zawiera spis wykorzystanych w pracy pozycji bibliograficznych. Brakujące pozycje literatury, które zostały wykorzystane w pracy a nie znalazły się w spisie a także zawarte w spisie ale nie uwzględnione w tekście pracy zaznaczyłem w przedstawionym mi do oceny manuskrypcie pracy doktorskiej. Zaznaczyłem tam także niedociągnięcia techniczne oraz błędy stylistyczne. Mam nadzieję, że moje uwagi natury redakcyjnej będą w przyszłości pomocne Autorce podczas publikowania wyników badań.

Podsumowując ocenę przedstawionej dysertacji doktorskiej pragnę zauważyć, że temat pracy, którym zajęła się w swoich badaniach Doktorantka jest w przypadku małych przeżuwaczy bardzo nowatorski. Konsekwencją tego jest niewielka ilość pozycji literatury zarówno krajowej jak i zagranicznej na ten temat. Niewątpliwie było to dużym utrudnieniem podczas zarówno ustalania warunków doświadczenia, jak i doboru odpowiednich metod oraz interpretacji wyników. Tym bardziej uważam, że uzyskane w niniejszej pracy wyniki stanowią cenne źródło wiedzy oraz mogą być inspiracją dla nowych badań prowadzonych w dziedzinie zootechniki i rybactwo.

Wyszczególnione w ocenie uwagi nie umniejszają jej merytorycznej wartości. Mają one w istocie przyczynić się do pełniejszego wyeksponowania istotnych elementów rozprawy.

Uważam, że oceniana praca pt. **„OCENA WPLYWU WYBRANYCH CZYNNIKÓW NA MIKROBIOM PRZEŻUWACZY”** spełnia wymagania stawiane dysertacjom doktorskim, określone w art. 13 Ustawy o stopniach (naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. 2017 poz.1789) w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1669 ze zm.).Biorąc powyższe pod uwagę, wnoszę do Rady Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie Pani mgr Pauliny Cholewińskiej - do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

