

Lublin, 04.09.2023 r.

Prof. dr hab. Małgorzata Kwiecień

Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki

20-950 Lublin, Akademicka 13

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Marty Michalak

pt. „Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa w żywieniu kurcząt rzeźnych”

wykonanej w Katedrze Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa

Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

pod kierunkiem dr hab. Andrzeja Wiliczkiwicza, prof. uczelni

oraz promotora pomocniczego dr inż. Barbary Król, prof. uczelni

Podstawę opracowania recenzji stanowi decyzja Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 2 czerwca 2023 roku oraz pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo pana dr hab. inż. Heliodora Wierzbickiego, prof. uczelni z dnia 03.07.2023 r.

Ocena formalna

Pracę w formie nieopublikowanej monografii przedstawiono na 70 ponumerowanych stronach wydruku komputerowego formatu A4, z których 2 strony obejmują Streszczenie w języku polskim i angielskim, 5 stron to Wprowadzenie i Przegląd literatury, 1 strona to Cel pracy i Hipotezy badawcze, 25 - Materiał i metody, 12 stron poświęcono na Wyniki, 5 stron na Dyskusję, 1 stronę zajmują Wnioski, na kolejnych 8 stronach zamieszczono Literaturę, spis rycin i ilustracji zawarto na 1 stronie, na 2 stronach spis wykresów i tabel, 3 strony zajmują protokoły. Rozprawa zawiera 2 ryciny i 5 fotografii, 24 tabele i 4 wykresy, 69 pozycji piśmiennictwa, w tym 63 (91%) anglojęzycznego oraz 5 stron internetowych. Układ pracy i podział treści na poszczególne rozdziały jest poprawny i stosowany w opracowaniach o charakterze naukowym, w tym odpowiada formom przyjętym dla prac doktorskich. Tytuł pracy odzwierciedla treści w niej zawarte.

Ocena merytoryczna

Polski przemysł paszowy jest w znacznym stopniu uzależniony od importu pasz wysokobiałkowych, przede wszystkim poekstrakcyjnej śruty sojowej, co może stanowić potencjalne zagrożenie dla białkowego bezpieczeństwa kraju. Z tych względów, obserwowany jest w ostatnich latach wyraźny wzrost zainteresowania zwiększeniem rodzimej produkcji pasz białkowych pochodzenia roślinnego. W wyniku prowadzonych prac hodowlanych i badawczo-rozwojowych uzyskuje się nowe odmiany m.in. roślin

strączkowych czy oleistych. Poszukuje się także możliwości ich efektywnego wykorzystywania. Rzepak postrzegany jest aktualnie nie tylko jako kluczowa krajowa roślina oleista, ale również interesujące źródło białka roślinnego. Przemysł olejarski jest bowiem w stanie dostarczyć wysokiej jakości białkowych komponentów paszowych, co ma istotne znaczenie w kontekście możliwości zastąpienia powszechnie używanej śruty sojowej. Konsekwencją takich założeń jest konieczność prowadzenia badań żywieniowych umożliwiających poznanie wartości pokarmowej nowych odmian rzepaku, czy produktów paszowych uzyskanych na bazie odolejonych nasion. Zastosowanie różnych procesów technologicznych może wpływać bowiem na właściwości fizyko-chemiczne roślinnych produktów, poprawiając ich właściwości odżywcze m.in. poprzez modyfikacje struktur białkowych i węglowodanowych, a także dezaktywację, czy eliminację substancji antyodżywczych. Jedną z najstarszych metod biologicznych uszlachetniania surowców paszowych jest fermentacja, która może prowadzić do unieczynnienia związków antyodżywczych, zwiększać wykorzystanie niestrawnych składników paszy, jednocześnie zapewniać zwierzętom odpowiedni udział prozdrowotnych probiotyków czy ich metabolitów. W ostatnich latach polski przemysł paszowy jest szczególnie zainteresowany efektywnością stosowania krajowych surowców w kontekście możliwości eliminacji z komercyjnych mieszanek poekstrakcyjnej śruty sojowej. Stąd, podjęte przez Doktorantkę badania obejmujące niniejszą dysertację uważam za potrzebne, aktualne i trafne, zwłaszcza w przypadku drobiu – największego konsumenta pasz treściwych.

Doktorantka nie ustrzegła się jednak błędów, które wpływają na wartość przedłożonej pracy:

Niewielkie uchybienia, jakie odnotowano w streszczeniu polskim i abstrakcie:

W streszczeniu polskim str. 3:

- wiersz 9-13 od góry – układ metodyczny należałoby przedstawić w sposób bardziej czytelny;

- w słowach kluczowych zamiast „wskaźniki produkcyjne” właściwszym byłoby „wyniki odchowu”; zamiast „strawność” „strawność składników pokarmowych”.

- 6 wiersz od dołu: „...a wyższą absorpcję popiołu surowego....” Brak informacji czy była badana

- 9 wiersz od dołu: „..... stwierdzono spadek współczynników strawności możestwierdzono zmniejszenie wartości współczynników strawności

- 11-12 wiersz od dołu styl zdania: „ Nie stwierdzono żadnych istotnych statystycznie różnic między uzyskanymi wynikami w badanych grupach dotyczącymi przyrostów masy ciała, ...”.

Abstract str. 4:

- nazwy grup bakterii piszemy kursywą.

W pierwszym rozdziale „**Wprowadzenie**”, choć właściwszym według mnie byłoby zatytułowanie go „**Wstęp**”, Doktorantka wprowadza czytelnika w zagadnienia związane z tematyką rozprawy, m.in. uzasadniając słuszność podejmowania badań nad zastosowaniem fermentowanej śruty rzepakowej w żywieniu kurcząt brojlerów. Przedstawiła także aktualny stan wiedzy na temat fermentowanych pasz wysokobiałkowych, które mogą stanowić alternatywę dla poekstrakcyjnej śruty sojowej, a dzięki poprawie wartości odżywczej i



zmniejszeniu substancji antyodżywczych w nich zawartych mogą stymulować do wydajniejszej produkcji. Dalsza część tego rozdziału, z wykorzystaniem dobrze dobranych pozycji piśmiennictwa, charakteryzuje różne inokulanty stosowane w procesie fermentacji i ich wpływ na wartość odżywczą pasz wysokobiałkowych fermentowanych, a co za tym idzie na organizm ptaków, stanowiąc merytoryczne uzasadnienie wyboru konkretnego dodatku doświadczalnego do badań stanowiących podstawę ocenianej rozprawy doktorskiej. Doktorantka odwołuje się do 52 pozycji literaturowych, właściwie dobranych i wykorzystanych. Cytowane piśmiennictwo, w przypadku 30 pozycji, ukazało się w ostatnich dziesięciu latach. Prawidłowo dobrane piśmiennictwo, autorów krajowych i zagranicznych, świadczy o dobrej znajomości problematyki, której dotyczy oceniana dysertacja doktorska. Doktorantka cytuje w większości najnowsze piśmiennictwo, ale w miarę potrzeby umiejętnie wykorzystuje także starsze publikacje. Drugi podrozdział **Wprowadzenia** dotyczy roli fermentowanych pasz w żywieniu drobiu i ich wpływu na mikrobiom układu pokarmowego. Rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki w zootechnice. Wybór tematyki, obiektu i metod badań jest zgodny ze współczesnymi trendami i standardami w reprezentowanej dyscyplinie.

Niewielkie uchybienia, jakie odnotowano w tym rozdziale to:

1. Str. 6 – cytowane pozycje „FAO, 2019 i 2022” nie mają odzwierciedlenia w spisie Literatury.
2. Błędy w cytowaniu pozycji literatury, tak naprawdę nie wiadomo, która pozycja jest właściwa, czy ta zacytowana w tekście czy zawarta w spisie **Literatury**; np. na str. 6 cytowana jest pozycja Dowd 2015, a ze spisu Literatury wynika, że jest to Dowd i in., 2015. Podobnie str. 7 (Patyra 2016; Beski 2015; Zaworski 2017; Chi i in., 2016), str. Bartkiene 2015; Sedláková 2016; Olukomaiya 2019), str. 10 (Young i in., 2016). Proszę skorygować.
3. Skrót myślowy – str. 12 trzeci wiersz od góry „...bioty...” powinno być „...mikrobioty. „
4. Ostatni akapit przed rozdziałem 1.2. oraz fragment ze str. 8, 11 wiersz od dołu „W badaniach Chiang i in. [2010] wykazano wzrost wysokości kosmków jelitowych i stosunku ich wysokości do 2 wiersze od góry na str. 9 powinien być przeniesiony do tego rozdziału ze względu na jego tematykę.

Na podstawie analizy piśmiennictwa naukowego prawidłowo sformułowano **Cel pracy** jakim była ocena zastosowania fermentowanej śruty rzepakowej jako białka w żywieniu kurcząt brojlerów oraz **cztery cele szczegółowe pracy**. Zarówno cel główny, jak i cele szczegółowe są właściwe, jasno sprecyzowane, a zamieniłabym jedynie kolejność 3 jako 2 a 2 jako 3.

Przedstawione zostały również hipotezy badawcze. Jeśli chodzi o hipotezy właściwszym sformułowaniem zamiast „**Przetestowano następujące hipotezy**” byłoby po prostu „**Hipotezy badawcze**”. Hipoteza 1 została postawiona prawidłowo, natomiast 2 jest oczywista - przecież wiadomo, że spożywanie produktów fermentowanych wpływa na skład mikrobioty - może lepiej byłoby napisać o ilości śruty fermentowanej, czy 10 lub 5% wpłynię na skład mikrobioty. W Hipotezie 3 proszę poprawić styl.

Podsumowując tą część wprowadzającą pracy stwierdzam, iż tytuł pracy i założony cel badawczy i hipotezy (z wyjątkiem 2) znajdują uzasadnienie merytoryczne, a przedstawiony przegląd piśmiennictwa oddaje stan wiedzy na badany temat.



Material i metody badań

Material i metody badań nie jest mocnym punktem rozprawy i budzi dużo zastrzeżeń. Przedstawię je w punktach:

1. Opis badań mało klarowny, bez wyraźnego usystematyzowania opisu materiału zwierzęcego, układu doświadczenia i jego przebiegu.
2. Na stronie 14 cytuję „Wszystkie procedury wykonywane na zwierzętach były zgodne z regulacjami Unii Europejskiej (Dyrektywa 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych), a przeprowadzone doświadczenia nie wymagały zgody Lokalnej Komisji Etycznej do spraw doświadczeń na zwierzętach”. Wszystko by się zgadzało, o ile wszystkie procedury zastosowane w badaniu będą nieinwazyjne, co oznacza, że w rozumieniu dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych (Dz. Urz. UE L 276 z 20.10.2010) nie będą powodowały bólu, cierpienia, dystresu ani trwałego uszkodzenia w stopniu równym lub poważniejszym ukłuciu igłą. W tych jednak doświadczeniach zwierzęta były uśmiercane, był czynnik i grupy doświadczalne, co wymaga niestety zgody Komisji Etycznej lub opinii Zespołu ds Dobrostanu Zwierząt.
3. Tabela 1, str. 17 powinna być przy niej podana pozycja Aviagen (2015) i znaleźć swoje odzwierciedlenie w **Literaturze**. Na tej samej stronie pozycja Smulikowska i in. 2015 - nie ma swojego potwierdzenia w **Literaturze**, natomiast jest Smulikowska 2015, a to nie to samo.
4. Należałoby też zdecydować się i ujedlić czy piszemy tlenek chromu (III) str.17 czy Cr_2O_3 (str. 32, 34).
5. Skrót UPWr (str. 17, 32) – należałoby napisać pełną nazwą.
6. Sugerowałabym także zmianę kolejności tabel zaczynając od składu i wartości pokarmowej mieszanek paszowych. Tabela 2 str. 18 z powodzeniem mogłaby być zamieszczona pod tabelami ze składem mieszanek paszowych i nie zwiększałaby sztucznie objętości pracy, Tak to też zwyczajowo jest pisane. To samo tyczy zdjęć (1, 2 str. 15) i rycin (1, 2, 3 str. 6, 11, 16) - powinny mieć zdecydowanie mniejszy ich format.
7. Brak opisu czynnika doświadczalnego.
8. Tabela 3 i 4 nie ma odzwierciedlenia w tekście.
9. Część eksperymentalna pracy obejmowała dwa doświadczenia na kurczętach rzeźnych odchowywanych do 35. dnia życia. Dlaczego ptaki ubijano po 35., a nie po 42. dniach?.
10. Na jakiej podstawie wybierano ptaki do uboju i dysekcji, jak je ubijano? - ile ptaków ważono każdorazowo? Ile ptaków ubito? Ile tuszek rozebrano? Czy była kontrolowana śmiertelność ptaków?.
11. Dlaczego jest zastrzeżone, że tylko 1 mięsień piersiowy (prawy!) pobierano i ważono? Dlaczego nie wykonano całej dysekcji, czyli pobrania i zważenia mięśni piersiowych, udowych, tłuszczu brzuszego, podrobów (wątroba, żołądek, serce), oraz wypreparowanych kości kogutków, które posłużyłyby do wyliczenia wydajności rzeźnej i udziału poszczególnych tkanek w masie ciała? Nie robi się doświadczenia tylko po to, aby pobrać 1 mięsień i wątrobę? Myślę, że były te badania przeprowadzone i warto by te wyniki uwzględnić przy przygotowywaniu pracy do publikacji, co zwiększy jej wartość naukową.
12. W tabeli 7, w nagłówkach grup przy starterze podano grupa II 2,5% ŚR, III 5% ŚR, IV 2,5% ŚR+2,5% FŚR, V 5% ŚR+5%FŚR co nie zgadza się z nagłówkiem tabelach 8 i 9



Starter, podobnie Grower 1 (tabela 8). Ponadto w mieszankach Grower 1 i 2 (Tabela 7) zsumowane komponenty przekraczają wartość 100%.

13. Grower I i II mają dokładnie ten sam skład (Tabela 7)? Natomiast w tabeli 8 zawartość składników pokarmowych jest zróżnicowana? Podobnie w doświadczeniu II podano receptury mieszanki Grower bez rozgraniczenia na Grower 1 i 2 (tabela 10), a w tabeli 11 zawartość składników pokarmowych i mineralnych w obu mieszankach Grower. Z kolei w tabeli 12 zawartość aminokwasów jest identyczna w obu okresach Grower.

14. Dlaczego zmieniono dawki w dwóch różnych okresach chowu. Jaka jest gwarancja, że nie zaszła interakcja? Jeśli coś było w grupie np. trzeciej na etapie żywienia Starterem, to powinno być również na tym samym poziomie w Grower 1 i 2. Chyba, że miał to być tzw. układ kompletnie zrandomizowany, aczkolwiek nie ma o tym wzmianki w opisie poza tym, że losowo rozmieszczono replikacje, co akurat było prawidłowe.

15. Brak opisu oznaczenia strawności składników pokarmowych.

16. Str. 33, 2 wiersz od dołu przed tabelą 14 należy przy AOAC podać rok i wykazać to w spisie literatury.

17. W tabeli 14 - AOAC to nie normy tylko metody.

18. str. 33: „Naważki wynosiły od 0,2-2,3 g.” – wg mnie naważki powinny być zbliżone wartością, co to za naważka 0,2 g?

19. Str. 34 - według jakiej metody oznaczano fosfor?

20. Str. 35 – Fotografia 3 nie ma odzwierciedlenia w tekście pracy. Podobnie Fotografia 4 ze str. 36 i Fotografia 5 ze str. 37.

21. Test porównań wielokrotnych opracował Tukey, nie Tuckey (str. 38, pkt 3.6).

22. Jeśli szacowano współczynniki korelacji Spearmana powinno to być zestawione w macierzy i z weryfikacją istotności współczynników oraz przedstawione w **Wynikach**.

W kolejnym najobszerniejszym rozdziale Wyniki wyodrębniono dwa główne podrozdziały, a mianowicie Doświadczenie I i Doświadczenie II a w nich podrozdziały. Jednak w doświadczeniu I zabrakło mi niektórych elementów, które zostały ujęte w II, np. oceny wyników produkcyjnych oraz analizy mięśnia piersiowego i wątroby. Odnosząc się do opisu **Wyników** badań Doktorantka nie stwierdziwszy istotnego wpływu czynnika doświadczalnego, nie powinna podawać informacji o tym, jaki był układ wyników, która średnia była największa, a która najmniejsza (te wartości i tak znajdują się w tabelach), przy różnicach istotnych wskazać, gdzie i o ile (np. %) czynniki doświadczalne powodowały wzrost lub obniżenie strawności składnika pokarmowego czy jakiegoś innego badanego parametru (dotyczy to wszystkich wyników z tego rozdziału). Inne uwagi do tej części dysertacji:

1. Tabela 16 ze str. 40 nie ma odzwierciedlenia w treści pracy a ponadto w tytule tabeli „Współczynniki strawności pozornej składników pokarmowych oraz absorpcji pozornej popiołu surowego [%]”. Czy była badana absorpcja popiołu surowego? Czy bada się strawność suchej masy?

2. Wykres 1 ze str.41 nie ma odzwierciedlenia w tekście pracy.

3. Czy poziom DNA bakterii (Wykres 1) ma jakąś jednostkę?

4. Wykres 1 ze str. 42, wykres 3 ze str. 49 - nie ma odzwierciedlenia w tekście pracy. Nie widzę też korelacji ze strony 41 i 49, nie ma macierzy - wykres 2 (str. 42) i 4 (str. 50), których również nie ma w tekście - podane są wykresy, nie opisane, 3 rodzaje bakterii i nie



porównywane z niczym, bo nie ma ani jednej wartości. Poza tym skoro przeprowadzono tak drogą analizę może warto było ją uzupełnić o tańsze metody, chociażby oznaczenie liczby kolonii bakterii czy identyfikowanie gatunków nawet na API?

5. Podrozdział 4.3. Ocena wyników produkcyjnych str. 42 jest źle sformułowany. Może „wybranych”. Ponadto dotyczy on tylko doświadczenia II a w I nie ma o tym mowy? Należałoby tą część pracy uzupełnić i poszerzyć o wyniki zaznaczone przeze mnie w rozdziale „Materiał i metody badań”, przy opracowywaniu jej do druku. Dlaczego nie podano końcowych mas ciała?

6. Należałoby też zweryfikować wyniki zawarte w tabeli 19 ze str. 44 (FCR)? Wartości wydają się być zawyżone; na produkcji uzyskuje się 1,7 kg, a w doświadczeniach 1,4-1,5 kg. Przy tabeli 19 brak jednostki, w której wyrażano FCR.

7. Pobranie paszy i FCR dotyczą mieszanki Grower 1 i 2? A gdzie Starter? Dotyczy tylko doświadczenia II, a gdzie wyniki z doświadczenia I???

8. Skąd jedna wartość prawdopodobieństwa pod tabelą 17, 18, 19, 20, 21, 23???. Każda cecha to osobny test, więc mamy tyle wartości p, ile mamy cech, zakładając, że to p dotyczy analizy wariancji.

9. Ile ważyły ubijane ptaki? Podroby liczy się jako procent masy żywej przed ubojem, sama masa wątroby nic nie mówi; - nie ma tłuszczu okołojelitowego, a na pewno był zróżnicowany.

Niezręczne określenia użyte w tej części pracy to np.: „W ostatnim tygodniu sytuacja odwróciła się na korzyść grupy kontrolnej.....” str. 43 – należy stosować nomenklaturę naukową.

W rozdziale **Dyskusja** Autorka podjęła próbę usystematyzowania i uogólnienia uzyskanych wyników. Synteza uzyskanych wyników jest w miarę poprawna. Autorka mogłaby jednak w nieco większym stopniu pokusić się nie tylko o ich konfrontację z wynikami innych badaczy, ale i o próbę własnej interpretacji. Ten mankament wydaje się jednak łatwy do uzupełnienia przed ewentualną jej publikacją. Ponadto 10 wiersz od dołu str. 53 do końca strony opisuje badania na świniami a kolejne zdanie brzmi: „Wyniki powyższych badań nie pokrywają się z wynikami uzyskanymi w doświadczeniu drugim.....itd. Można wspomnieć o innych gatunkach zwierząt, ale nie porównywać do wyników uzyskanych dla drobiu ze względu na różnice w fizjologii trawienia.

Kolejny rozdział **Wnioski** powinien zawierać krótkie podsumowanie a następnie sformułowanie 2-3 wniosków i zaleceń praktycznych, które są odpowiedzią na postawione hipotezy badawcze. Zawarte informacje w tym rozdziale są w zasadzie najważniejszymi spostrzeżeniami z uzyskanych wyników badań. Należałoby jednak poprawić styl pierwszego zdania. Ponadto, skoro w paszy była i poekstrakcyjna śruta sojowa i rzepakowa, to ostatni wniosek nie ma uzasadnienia. Zaleceniem dla praktyki byłoby ostatnie zdanie tego rozdziału z podaniem w jakiej ilości należałoby ją stosować.

W rozdziale **Literatura** sugeruję, że korzystniejsza byłaby numeracja pozycji piśmiennictwa.

Wymienione uchybienia, tak formalne, jak i merytoryczne, obniżają co prawda wartość pracy, ale nie dyskwalifikują jej jednak jako dysertacji doktorskiej. Przyszłe publikacje



przygotowane na bazie opisanego w rozprawie doświadczeń zyskają na jakości, jeżeli Kandydatka ustosunkuje się wszystkich uwag zawartych w recenzji. Na podkreślenie zasługuje zastosowana w badaniach metoda qPCR posiadającą olbrzymi potencjał diagnostyczny i pozwalająca na uzyskanie precyzyjnych wyników.

Podsumowując, pomimo wielu uwag krytycznych (które są obowiązkiem recenzenta) przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Marty Michalak ma formę pracy pisemnej, która jest zgodna z wymogiem ustawowym i wnosi wkład w dziedzinę nauk: nauki rolnicze, dyscyplinę: zootechnikę i rybactwo. Stanowi raport z wartościowych badań przeprowadzonych na podstawowym gatunku, jakim jest drób, posiadających wartość zarówno poznawczą, jak i praktyczną. Badania te wnoszą rozwiązanie problemu naukowego, którego wybór jest w pełni uzasadniony.

Wniosek końcowy

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca doktorska mgr inż. Marty Michalak pt. „Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa w żywieniu kurcząt rzeźnych” spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim, określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789 z późn. zm.) z dnia 14 marca 2003 roku, w związku z art. 179, Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – przepisy wprowadzające Ustawę: Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669 z późn. zm.).

W związku z powyższym przedkładam Radzie Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie mgr inż. Marty Michalak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Lublin, 4.09.2023 r.

Prof. dr hab. Małgorzata Kwiecień

