

**Prof. dr hab. Anna Wójcik**

Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska,  
Wydział Bioinżynierii Zwierząt,  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Marty Michalak pt.: „Fermentowana poekstrakcyjna  
śruta rzepakowa w żywieniu kurcząt rzeźnych”**

**Praca doktorska została wykonana w Katedrze Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa  
Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu  
pod kierunkiem dr hab. inż. Andrzeja Wiliczkiwicza prof. uczelni oraz promotora  
pomocniczego dr inż. Barbary Król, prof. uczelni**

Ocenę rozprawy wykonano na zlecenie dr hab. inż. Heliodora Wierzbickiego, prof. uczelni, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu zgodnie z wymogami art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017r., poz. 1789 – t.j.) w związku z art. 179 ust. 1 oraz art. 179 ust.3 pkt 1 i 2b Ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r. poz. 1669). Przedstawiona do oceny praca spełnia warunki formalne określone w.w. przepisach. Materiały zostały przygotowane przejrzyście i w sposób umożliwiający właściwą i pełną ocenę oraz zapoznanie się z istotą rozprawy doktorskiej.

W poszukiwaniu rodzimych źródeł pasz białkowych uwaga badaczy skierowana jest na wykorzystanie produktów z rzepaku, w tym poekstrakcyjnej śruty rzepakowej. Jej produkcja w kraju jest wysoka i może stanowić istotną pozycję w żywieniu zwierząt monogastrycznych. Niestety zawarte w jej składzie substancje antyodżywcze oraz stosunkowo wysoka zawartość włókna pokarmowego są przeszkodą szerszego jej wykorzystania. Jedną z metod poprawy wartości odżywczej śruty rzepakowej i jej przydatności paszowej może być fermentacja. W ten nurt badań włącza się praca doktorska Pani mgr inż. Marty Michalak a zagadnienia poruszane w pracy doktorskiej są bardzo aktualne.

Przedstawiona do oceny praca, składa się z dziewięciu oznaczonych numerycznie rozdziałów:

1. „Wprowadzenie”
2. „Cel pracy i hipotezy badawcze”
3. „Materiał i metody”
4. „Wyniki”
5. „Dyskusja”
6. „Wnioski”
7. „Literatura”
8. „Spis rycin i fotografii”
9. „Spis wykresów i tabel”

Streszczenie w języku polskim i w języku angielskim zostały umieszczone na początku pracy. Na końcu pracy Dyplomantka zamieściła dwa protokoły będące elementem metodyki, które należało zatytułować jako „Załączniki” i wraz ze streszczeniami zamieścić w spisie treści.

Praca liczy ogółem 70 stron maszynopisu, układ pracy jest poprawny, typowy dla prac badawczych na stopień naukowy, napisana jest poprawnym językiem polskim z zastosowaniem słownictwa naukowego i z formalnego punktu widzenia nie budzi zastrzeżeń.

Rozdział „Wprowadzenie” został podzielony na dwa podrozdziały, w których Doktorantka w oparciu o właściwie dobraną literaturę (69 pozycji literatury) przedstawiła zakres tematyczny pracy. Autorka opisała znaczenie w produkcji drobiarskiej stosowania wysokobiałkowych pasz fermentowanych. Odniosła się do stosowanych technologii fermentacji pasz wysokobiałkowych w kontekście zwiększenia wartości pokarmowej przy jednoczesnym obniżeniu zawartości substancji antyodżywczych roślin wysokobiałkowych. Wskazała również, że łączenie materiałów fermentowanych do diety drobiu ma również pozytywny wpływ na morfologię jelit oraz stymuluje system antyoksydacyjny. W drugim podrozdziale Doktorantka skupiła się na znaczeniu mikrobiomu przewodu pokarmowego dla rozwoju i funkcjonowania drobiu, a także na sposobach jego modyfikacji poprzez żywienie zwierząt paszami fermentowanymi.

Wprowadzenie do dysertacji w mojej ocenie powinno zakończyć się krótkim podsumowaniem, które jasno wskazywałyby dlaczego Doktorantka zainteresowała się tym tematem i dlaczego podjęła się przeprowadzenia badań w zakresie jaki określiła w celu badań.

Doktorantka w tym rozdziale nie ustrzegła się pewnych błędów redakcyjnych związanych z cytowaniem literatury, które mam nadzieję skoryguje przy przygotowywaniu pracy do druku:

1. Strona 6 – cytowanie za FAO 2019 i FAO 2022 – w rozdziale „Literatura” podana jest strona internetowa (<https://www.fao.org/poultry-production-products/production/en/>), która nie przekierowuje do danych, na które powołuje się Autorka;
2. Strona 7: jest: Patyra 2016 – powinno być: Patyra i Kwiatek 2016;  
jest: Beski 2015 – powinno być: Beski i in. 2015;  
jest: Zaworska 2017 – powinno być: Zaworska-Zakrzewska i in. 2017;  
jest: Chi i in. 2016 – powinno być Chi i Cho 2016;
3. Strona 8: jest Bartkiene 2015 – powinno być: Bartkiene i in. 2015;  
jest: Sedláková 2016 – powinno być: Sedláková i in. 2016;  
jest: Olukomaiya 2019 – powinno być: Olukomaiya i in. 2019;
4. Strona 10: jest: Young i in. 2016 – powinno być Young 2016.

5. Przy cytowaniach kilku autorów, nie zastosowano jednolitego sposobu cytowania: większości przypadków jest to cytowanie alfabetyczne, ale kilkakrotnie wg roku publikacji albo kolejność nazwisk jest przypadkowa.

W rozdziale „Cel pracy i hipotezy badawcze” mgr inż. Marta Michalak, jako cel nadrzędny określiła ocenę możliwości wykorzystania fermentowanej śruty rzepakowej jako źródła białka w żywieniu kurcząt rzeźnych oraz sformułowała trzy hipotezy badawcze:

1. Dodatek fermentowanej śruty rzepakowej do mieszanki pełnoporcjowej wpływa na efekty produkcyjne kurcząt brojlerów.
2. Zawarte w fermentowanej śrucie rzepakowej bakterie kwasu mlekowego wpływają na skład mikrobiologiczny jelita ślepego.
3. Fermentacja śruty rzepakowej wpływa na strawność składników pokarmowych, głównie białka, zawartych w mieszankach pełnoporcjowych.

Hipotezy badawcze zostały zweryfikowane w dwóch doświadczeniach, opisanych w rozdziale „Materiał i metody”, który został podzielony na kilka podrozdziałów. W podrozdziale 3.1. Doktorantka opisała materiał i sposób utrzymania zwierząt. W tej części znajduje się opis sposobu żywienia wraz z tabelami ze składem premiksów (tabela 2), zawartością składników pokarmowych i mineralnych (tabela 3) oraz zawartością aminokwasów (tabela 4) w poekstrakcyjnej i fermentowanej śrucie rzepakowej. Ten fragment pracy powinien znaleźć się w kolejnym podrozdziale 3.3. „Wartość pokarmowa i skład mieszanek pełnoporcjowych”, co byłoby bardziej czytelne.

W podrozdziale 3.2. „Część doświadczalna”, Autorka przedstawiła układ grup w obu doświadczeniach (tabela 5 i 6) oraz podano badane parametry w I i II doświadczeniu. Czynnikiem doświadczalnym były dwa rodzaje śruty rzepakowej – śruta poekstrakcyjna i śruta fermentowana, które podawano kurczętom brojlerom w dwóch dawkach: w mieszance starter 2,5% i 5%, natomiast w mieszance grower 1 i 2 – 5 i 10%. W doświadczeniu pierwszym zastosowano zwiększone udziały śruty rzepakowej (starter PŚR 2,5% + FŚR 2,5%; grower 1 i 2: PŚR 5% + FŚR 5%). Połączenie obu rodzajów śrut rzepakowych w dwóch z pięciu grup doświadczalnych, Autorka tłumaczy sprawdzeniem, cyt.: „...czy fermentacja miała wystarczająco korzystny wpływ na ten materiał paszowy, by wyeliminować negatywny wpływ wysokich udziałów poekstrakcyjnej śruty rzepakowej na organizm kurcząt. Powyższą ocenę wykonano poprzez analizę qPCR mikroflory jelita ślepego oraz współczynniki strawności poszczególnych składników pokarmowych.” W moim przekonaniu to uzasadnienie jest nie precyzyjne i dlatego proszę o bardziej szczegółowe wyjaśnienia. Proszę również o wyjaśnienie, dlaczego wykonano tylko analizę mikroflory jelita ślepego i zbadano współczynniki strawności, a nie wykonano takich samych analiz jak w doświadczeniu drugim.

W podrozdziale 3.3. została przedstawiona wartość pokarmowa i skład mieszanek pełnoporcjowych zastosowanych w doświadczeniu I i II. W obydwu doświadczeniach zastosowano mieszanki starter, grower 1 i grower 2, natomiast skład recepturowy mieszanek (tabela 7 i 10) oraz zawartość aminokwasów (tabela 9 i 12) podane są łącznie dla obu mieszanek grower. Dlaczego w takim razie zawartość składników pokarmowych i mineralnych (tabela 8 i 11) przedstawiona jest osobno dla każdej mieszanki? Ponadto analizując receptury mieszanek pełnoporcjowych, mieszanki grower w pierwszym doświadczeniu (tabela 7) po zsumowaniu dają wartości powyżej 100%: gr I – 101,02%; gr II – 101%; gr III – 101,01%; gr IV – 106,01%; gr V – 110,01%.

W kolejnych dwóch podrozdziałach 3.4. „Analiza składu chemicznego - pasza, mięśnie, wątroba i kałomocz” i 3.5. „Ekstrakcja DNA i analiza qPCR”, Autorka skrupulatnie przedstawiła metody wykonanych analiz badanych parametrów, wykorzystane normy oraz aparaturę. Na podkreślenie zasługuje wykorzystanie nowoczesnej techniki łańcuchowej reakcji polimerazy (qPCR) do analizy mikroflory jelita ślepego. Metoda ta została bardzo dokładnie opisana wraz z dodatkowymi protokołami zamieszczonymi na końcu dysertacji.

Przy opisie wykonanej analizy statystycznej wyników badań, zabrakło informacji, że dane przedstawiono jako średnie, odchylenie standardowe ( $\pm$  SD), a wartość  $P \leq 0,05$  uznano za istotną statystycznie.

Podsumowując rozdział materiał i metody, należy podkreślić, że badania były wykonane przy użyciu nowoczesnych i dobrze dobranych metod, które gwarantują wiarygodność uzyskanych wyników. Wykonanie badań wymagało od Doktorantki dobrego przygotowania teoretycznego, specjalistycznego sprzętu i umiejętności analitycznych. Przedstawione do tego rozdziału uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej dysertacji i mam nadzieję, że zostaną uwzględnione przy przygotowywaniu pracy do druku.

W rozdziale „Wyniki” mgr inż. Marta Michalak w sposób merytoryczny przedstawiła uzyskane wyniki badań w oparciu o przeprowadzone analizy. Wyniki przedstawiła w 9 tabelach i na 4 wykresach. Rozdział ten został podzielony na dwa podrozdziały, które odnoszą się do przeprowadzonych doświadczeń. W doświadczeniu pierwszym Autorka stwierdziła spadek współczynników strawności białka ogólnego, włókna surowego i BWA (gr V) w grupach kurcząt żywionych mieszanką pełnoporcjową z obiema rodzajami śrut rzepakowych: poekstrakcyjną i fermentowaną. W przypadku pozostałych składników uzyskane wyniki były zbliżone we wszystkich grupach. Zarówno w pierwszym jak i w drugim doświadczeniu, analiza ekspresji genów bakterii z gromady *Bacteroidetes* oraz rodzin *Lactobacillus* i *Clostridia* w jelicie ślepym, nie wykazała potwierdzonych statystycznie różnic.

W drugim doświadczeniu Doktorantka przedstawiła szerszy zakres przeprowadzonych

analiz: dobowe przyrosty masy ciała, pobranie paszy, współczynnik wykorzystania paszy i strawność składników pokarmowych, długości jelita cienkiego wraz z dwunastnicą, jelita grubego oraz jelit ślepych, określiła również masę wybranych części tuszki. Przeprowadzone przez Nią badania wykazały, że włączenie fermentowanej śruty rzepakowej w ilości 5 i 10% mieszanki pełnoporcjowej dla kurcząt rzeźnych pozostało bez istotnego wpływu na wyniki produkcyjne ptaków, masę oraz skład chemiczny badanych części tuszki, a także długość poszczególnych odcinków jelita ptaków. W rozdziale tym, Doktorantka nie ustrzegła się jednak pewnych nieścisłości:

1. brak jest odwołania w tekście do tabeli nr 16 i wykresu nr 1;
2. na wykresach nr 1 i nr 3 brak jest jednostek ( $\Delta\Delta Cq$ ) w jakich określa się poziom DNA;
3. wykresy nr 2 i nr 4 przedstawiają macierzowy wykres rozrzutu ogółu zmiennych w korelacji porządku rang Spearmana. Przy przygotowaniu pracy do druku sugeruję przedstawienie macierzy korelacyjnej z zaznaczeniem istotności.

Proszę również o wyjaśnienie dlaczego zamieściła Pani w pracy dobowe przyrosty masy ciała (tabela 17, brak jednostek przyrostu masy ciała), a nie podała końcowej masy ciała kurcząt? W tabelach 18 „Pobranie mieszanki pełnoporcjowej [g/dz./szt.]” i w tabeli 19 „FCR poszczególnych mieszanek” podane są tylko wartości dla mieszanek grower 1 i grower 2. Dlaczego nie ma wartości dla mieszanki starter?

Odnosząc się jeszcze do przedstawionych w tabelach wyników badań, chciałabym zwrócić uwagę, że w tabelach nie podano wartości prawdopodobieństwa dla badanych cech, nie jest to błąd, ale stanowiłoby to pełniejszą informację o wynikach przeprowadzonej analizy statystycznej. Nie zrozumiałe jest natomiast podanie pod tabelami jednej wartości prawdopodobieństwa równej lub wyższej niż 0,05, w sytuacji gdy nie stwierdzono istotności różnic, ponadto nie wiadomo do której cechy odnosi się ta wartość (wykres 1 i 3, tabele: 17, 18, 19, 20, 21, 23).

Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na styl opracowania, w którym Doktorantka kilkakrotnie niepotrzebnie wzmacnia siłę ekspresji przez stosowanie sformułowań: „Nie wykazano jednak żadnych statystycznie istotnych różnic w ilości pobranej paszy w poszczególnych okresach odchowu kurcząt”. „Pobranie pasz grower 1 i grower 2 było dość wyrównane...”. Powinno się używać określeń „Nie wykazano jednak statystycznie istotnych różnic ...” czy „...pobranie paszy było na zbliżonym poziomie...”.

W rozdziale „Dyskusja” Doktorantka skonfrontowała uzyskane w badaniach własnych wyniki z literaturą. Autorka porusza się w swobodnie w omawianych zagadnieniach i posiada na tym polu dużą wiedzę. Jednak moim zdaniem zabrakło autorskiej interpretacji uzyskanych wyników i zależności oraz próby analizy np. dlaczego dodatek fermentowanej śruty rzepakowej nie poprawił współczynników strawności. Pomimo to rozdział ten oceniam pozytywnie.

Wartość pracy mierzy się głównie konkluzją wyrażoną w formie wniosków końcowych. Oceniana praca kończy się rozdziałem „Wnioski”, w której Doktorantka zawarła cztery punkty, które w mojej ocenie stanowią raczej podsumowanie wyników ale nie są wnioskami. W pracy naukowej wnioski powinny być odpowiedzią na postawione hipotezy badawcze. Przy przygotowywaniu pracy do druku ten rozdział powinien być przeredagowany. Na podkreślenie zasługuje ostatnia konkluzja odnosząca się do aplikacyjności rozprawy doktorskiej i mówiąca o tym, że: „... fermentowana śruta rzepakowa może być stosowana jako zamiennik konwencjonalnej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej z zachowaniem ograniczeń w ilości stosowanego materiału”.

Pomimo wskazania pewnych niedoskonałości i uwag, zawarte w rozprawie wyniki badań świadczą o wystarczającym opanowaniu przez Panią mgr inż. Martę Michalak warsztatu prowadzenia badań naukowych. Wyrażam przekonanie, że moje uwagi nie umniejszają merytorycznej wartości pracy oraz jej walorom poznawczym i aplikacyjnym. Pozwolą natomiast podnieść wartość naukową przy przygotowaniu pracy do druku.

### **Podsumowanie**

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Marty Michalak stanowi nowe rozwiązanie problemu naukowego jakim jest możliwość wykorzystania fermentowanej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej w żywieniu drobiu. Rozprawa wnosi wkład w rozwój nauk rolniczych w dyscyplinie naukowej zootechnika i rybactwo oraz posiada znaczenie aplikacyjne. Autorka prawidłowo sformułowała hipotezy badawcze i cele badań naukowych, które w moim przekonaniu osiągnęła. Wykonanie badań wymagało od Doktorantki zaangażowania i wkładu pracy. Doktorantka wykazała się umiejętnością opracowania uzyskanego materiału oraz przedstawienia i omówienia uzyskanych wyników. W pracy zgromadzono i cytowano wartościową literaturę przedmiotu. Pani mgr inż. Marta Michalak wykazała się dobrą orientacją w analizowanych zagadnieniach. Zostały więc spełnione wymogi określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. -1789) w zw. z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r. poz.1669).

Mając powyższe na uwadze, przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Pani mgr inż. Marty Michalak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Anna Wojcik*

Olsztyn, 2023-09-05