

Lublin, dn. 20 stycznia 2022 r.

Prof. dr hab. Renata Klebaniuk
Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii
Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Ul. Akademicka 13
20-950 Lublin

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr inż. Martyny Wilk

pt.: Wpływ inokulantu *Lactobacillus buchneri* na wartość pokarmową kiszonek z *Sorghum saccharatum* (L.) Moench oraz procesy przemian żwaczowych

wykonanej 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

I. Podstawa prawna i ocena formalna

Ocenę rozprawy doktorskiej wykonano w odpowiedzi na pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu dr hab. inż. Heliodora Wierzbickiego profesora uczelni, z dnia 09 listopada 2021 roku (BDDD0000.RDZiR.4100.18.2021), zgodnie z wymogami określonymi w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 poz. 882) w związku z art. 179 ust. 1 oraz art. 179 ust. 3 pkt 2b Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1669 ze zm.).

II. Problem naukowy i znaczenie badań

We współczesnym rolnictwie, w tym w produkcji zwierzęcej, pojawiają się stale nowe, często wielokierunkowe wyzwania. Nie tylko w aspekcie bezpośredniego chowu i hodowli zwierząt, ale także w aspekcie globalnym.

Zmiany klimatyczne, których skutkiem jest ocieplenie się klimatu powodują, że coraz częściej zwraca się uwagę na źródła które emitują szkodliwe gazy cieplarniane, przede wszystkim metan. Za znaczną globalną antropogeniczną emisję metanu odpowiadają zwierzęta przeżuwające. Proces metanogenezy u przeżuwaczy jest niekorzystny zarówno dla środowiska (zwiększa pulę gazów cieplarnianych) jak i dla samych zwierząt (zmniejsza wykorzystanie

energii przez zwierzę). Najbardziej efektywnym i ekonomicznym sposobem ograniczenia emisji metanu w chowie i hodowli przeżuwaczy, jest stosowanie w żywieniu tych zwierząt pasz o wysokiej wartości pokarmowej, a tym samym wysokiej strawności.

Żywieniowe metody ograniczenia emisji metanu w żywieniu zwierząt przeżuwających, poza stosowaniem pasz o wysokiej wartości pokarmowej, to również zmniejszenie stosunku pasz objętościowych do treściwych, stosowanie kiszonek jako źródła probiotycznych mikroorganizmów, wykorzystanie metabolizmu bakteryjnego przy zastosowaniu określonych dodatków paszowych: wybranych szczepów drożdży, nasion roślin oleistych - niektórych tłuszczów zarówno w formie chronionej jak i niechronionej, olejków eterycznych, oraz obecności garbników roślinnych – tanin czy saponin. Mechanizm ich działania to przede wszystkim modulacja fermentacji w żwaczu poprzez zmiany w proporcji poszczególnych rodzajów mikroorganizmów.

Obecnie podstawową wysokoenergetyczną paszą objętościową charakteryzującą się wysoką wartością pokarmową w żywieniu przeżuwaczy, zwłaszcza wysokowydajnych krów mlecznych, jest kiszonka z kukurydzy. W warunkach klimatycznych naszego kraju, uzyskanie bardzo dobrej jakościowo kisonki z kukurydzy bywa trudne. Wciąż więc poszukuje się alternatywnych pasz (kisonek) i/lub dodatków stosowanych przy zakiszaniu, czy stosowanych bezpośrednio w dawce pokarmowej, które z jednej strony zapewniłyby źródło dobrej jakości energii paszy, z drugiej zaś optymalizowałyby wytwarzanie metanu w żwaczu. Alternatywą dla kukurydzy, również w warunkach polskich, w pewnym stopniu może być sorgo. Zarówno cała roślina jak i produkt uboczny po ekstrakcji soku z łodyg sorgo cukrowego (wytłok). Kiszonka z sorgo nie może być uznana za paszę konkurencyjną dla dobrej jakości kisonki z kukurydzy, ale z powodzeniem może być skarmiana dla przeżuwaczy o niższych wymaganiach energetycznych zwłaszcza przy zastosowaniu przy jej produkcji dodatków poprawiających jakość zakiszanej masy, stabilność kisonki, jak i intensywność procesów metanogenezy w żwaczu przy jej skarmianiu.

W ten nurt badań wpisuje się rozprawa doktorska mgr inż. Martyny Wilk. Podjęta tematyka badań jest aktualna i ważna, zarówno dla badań podstawowych w zakresie poszerzenia wiedzy na temat wykorzystania alternatywnych pasz w żywieniu zwierząt gospodarskich, jak i w zakresie poszerzenia wiedzy na temat możliwości optymalizacji jakości produkowanych kisonek. Ma również znaczenie praktyczne w odniesieniu do ograniczania intensywności produkcji metanu przez zwierzęta przeżuwające.

III. Opis i ocena pracy

Przedłożona do oceny dysertacja doktorska mgr inż. Martyny Wilk oparta jest głównie na dwóch pracach naukowo-badawczych opublikowanych w renomowanych czasopiśmie naukowych indeksowanych przez Journal Citation Report i posiadających współczynnik oddziaływania (Impact Factor – IF), oraz dodatkowych niepublikowanych wynikach badań własnych. Całość opracowania Autorka zatytułowała: Wpływ inokulantu *Lactobacillus buchneri* na wartość pokarmową kisonek z *Sorghum saccharatum* (L.) Moench oraz procesy przemian żwaczowych.



Prace naukowe tworzące trzon dysertacji doktorskiej:

1. Wilk M., Król B., Słupczyńska M., Sowiński J., Antoszkiewicz Z. (2020). Effect of *Lactobacillus buchneri* on the nutritive value of Sucrosorgo 506 bagasse silage. J. Anim. Feed Sci. 29, 2020, 158–166. DOI: 10.22358/jafs/124046/2020
2. Wilk M., Król B., Słupczyńska M., Sowiński J., Antoszkiewicz Z., Pecka-Kiełb E., Asghar M.U. (2021). In vitro rumen methanogenesis and fermentation profile of sorghum whole crop cereal and bagasse ensilaged with inoculum *Lactobacillus buchneri*. Pak. Vet. J. 2021, DOI: 10.29261/pakvetj/2021.056 (in press articles – in 2022)

Oceniając przedstawioną rozprawę doktorską należy stwierdzić, że załączone publikacje wraz z dodatkowym opracowaniem wyników własnych, stanowią spójną całość jednorodnych, wartościowych badań. Publikacje opublikowano w 2020 i 2021 roku. Do rozprawy dołączono oświadczenia współautorów publikacji, którzy potwierdzili, że udział Doktorantki jako Autorki w koncepcji i przeprowadzeniu doświadczeń, zbiorze i analizie danych, w tym w statystycznym opracowaniu wyników oraz przygotowaniu manuskryptu do druku był znaczący i wyniósł po 60 % w każdej z prac. Wskazuje to na znaczne zaangażowanie Doktorantki w proces powstawania i wydania publikacji.

Rozprawa doktorska – dwie wskazane przez Doktorantkę publikacje (wg mojej oceny, jako Recenzenta) mają następujące wartości bibliometryczne: sumaryczny Impact Factor (zgodnie z rokiem opublikowania) = 2,700; punkty oceny parametrycznej MEiN = 170. Dane bibliometryczne przedstawionych publikacji są mierzalne, jednoznacznie świadczą o jakości i znaczeniu badań dla nauki. Przyjęta forma przygotowania dysertacji z uwzględnieniem opublikowanych już prac naukowych w uznanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym (mimo, że tylko dwóch) ułatwia wykonanie zadania postawionego recenzentowi w zakresie merytorycznej oceny pracy. Prace te uzyskały pozytywne opinie niezależnych ekspertów związanych z daną problematyką, co świadczy o ich wartości naukowej. Dodatkowo opisane i przedstawione w dysertacji doktorskiej kolejne niepublikowane wyniki, uzupełniają i uszczegóławiają informacje zawarte w opracowaniach publikacyjnych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska to 106. stronicowe opracowanie w skład którego wchodzi następujące części: strona tytułowa, wykaz prac naukowych wchodzących w skład dysertacji doktorskiej, spis treści, wykaz ważniejszych skrótów, streszczenie w j. polskim i w j. angielskim, wstęp, cel badań, hipotezy badawcze, artykuły naukowe wchodzące w skład dysertacji doktorskiej (całość prac wraz z oświadczeniami współautorów), dyskusja, podsumowanie, tabele i wykresy oraz rozdział literatura.

Całość opracowania ma charakter naukowo – badawczy. W oparciu o szeroki zakres literatury, bezpośrednio i/lub pośrednio związanej z opracowanym tematem, mgr inż. Martyna Wilk bardzo szeroko omawia w rozdziale WSTĘP (22 strony) potrzebę i zasadność realizowanych badań oraz umiejscawia w nauce poruszany problem badawczy. Jednocześnie rozdział ten przez swoją objętość i wielokierunkowość poruszanych zagadnień, nie pełni roli wstępu, a jest zbliżony do przeglądu piśmiennictwa.



Celem przedstawionej do oceny pracy doktorskiej było określenie przydatności *Lactobacillus buchneri* (5×10^4 JTK/ml) jako dodatku do zakiszania zielonki lub wytlóków Sucrosorgo 506 oraz ocena wartości pokarmowej uzyskanych kiszonek, a także profilu fermentacji, wskaźnika pH, poziomu produkcji metanu oraz stężenia lotnych kwasów tłuszczowych w badaniach *in vitro*. W przeprowadzonych doświadczeniach zostały zweryfikowane postawione hipotezy badawcze:

Dodatek *Lactobacillus buchneri* (5×10^4 JTK/ml) do zakiszanej biomasy Sucrosorgo 506 ma pozytywny wpływ na skład chemiczny, jakość i stabilność tlenową kiszonki. Dodatek *Lactobacillus buchneri* (5×10^4 JTK/ml) do zakiszanej biomasy Sucrosorgo 506 ma pozytywny wpływ na profil fermentacji, oraz proces biometanacji w żwaczu.

Dodatek *Lactobacillus buchneri* (5×10^4 JTK/ml) do zakiszanych wytlóków Sucrosorgo 506 ma pozytywny wpływ na skład chemiczny, jakość i stabilność tlenową kiszonki. Dodatek *Lactobacillus buchneri* (5×10^4 JTK/ml) do zakiszanych wytlóków Sucrosorgo 506 ma pozytywny wpływ na profil fermentacji oraz proces biometanacji w żwaczu.

Autorka nie wyodrębnia w całości dysertacji rozdziału MATERIAŁ I METODY. Opracowanie takie, zawierające wykaz, syntetycznie przedstawione zasady przeprowadzenia poszczególnych doświadczeń oraz techniki użyte do wykonania pojedynczych badań czy analiz, przyczyniłyby się do zwiększenia czytelności całej pracy, zwłaszcza w odniesieniu do wyników jeszcze nieopublikowanych. Analizując szczegółowe metodyki w dwóch publikacjach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, należy stwierdzić, że badania były wykonane przy użyciu odpowiednio dobranych metod, które gwarantują wiarygodność uzyskanych wyników. Wykonanie badań wymagało dobrego przygotowania teoretycznego i umiejętności analitycznych.

W pierwszej z prac wchodzących w skład dysertacji udowodniono, że odpowiedni skład chemiczny świeżego Sucrosorgo 506 wystarcza do zapewnienia odpowiedniej fermentacji zakiszanej masy, ale dodatek *Lactobacillus buchneri* ma pozytywny wpływ na wartość odżywczą, jakość i zdolność do degradacji w żwaczu *in vitro* oraz strawność jelitową tej kiszonki. W drugiej z prac wykazano że obecność *Lactobacillus buchneri* może ograniczać metanogenezę wysokowłóknistych materiałów paszowych bez negatywnego wpływu na fermentację w żwaczu.

W kolejnym rozdziale DYSKUSJA, który w swoim układzie i treści jest omówieniem wyników, Autorka w sposób merytoryczny przedstawia w nawiązaniu do literatury, kolejne uzyskane dane. Omówione w tej części pracy wyniki są również częściowo zamieszczone w opublikowanych pracach. Taki układ i zestawienie informacji jest uzasadniony dla zachowania merytorycznej całości opracowania, jednak fakt ten należało w dysertacji zaznaczyć, np. dane w Table 1: Chemical composition and quality of SWCC and SB silages, g/kg of DM (mean \pm sd) (e Pak. J. Vet), a dane w: Tabela 3. Koncentracja składników pokarmowych oraz składników mineralnych w kisonkach z roślin Sucrosorgo 506, g/kg SM (dane nieopublikowane) – strona 75 dysertacji doktorskiej.

W PODSUMOWANIU Autorka podaje najważniejsze wyniki uzyskane z realizowanych badań, a końcowej jego części formułuje uogólnienie stwierdzając, że kiszonki z sorgo cukrowego uprawianego w warunkach klimatycznych Europy Środkowej z powodzeniem mogą stanowić podstawę żywienia przeżuwaczy o niższych wymaganiach energetycznych.

Piśmiennictwo (podane w rozdziale LITERATURA) obejmuje aż 293 pozycje. Znaczna część podanych pozycji jest zbędna. Bez najmniejszego uszczerbku dla całej dysertacji można było z nich zrezygnować, głównie z szeregu komunikatów z konferencji i kongresów czy części prac pochodzących z ub. wieku, zwłaszcza, że informacje w nich zawarte pojawiają się również w publikacjach z ostatnich lat, które też są w pracy uwzględnione. Tak znaczna liczba pozycji literatury przyczyniła się do powstania nieścisłości i błędów w samym wykazie, jak i w cytowaniu piśmiennictwa w całym opracowaniu, np.:

- kilku pozycji literatury zacytowanych w opracowaniu, brak w rozdziale LITERATURA: Liu i wsp. 2013 (cyt. na str. 27 i 34), Podkówka i Podkówka, 2017 (cyt. na str. 69), Weinberg i Muck, 1996 (cyt. na str. 29).

- kolejnych prac podanych w rozdziale LITERATURA nie zacytowano w dysertacji: np. pozycje: 19, 73, 76, 92, 105, 174, 201, 261, 270.

- są prace zamieszczone w wykazie, a cytowane jedynie w publikacjach stanowiących podstawę dysertacji, ale też prace cytowane w publikacjach, a nie zamieszczone w rozdziale LITERATURA. Trudno ocenić jakie było założenie Autorki co do zasad opracowania tego rozdziału. Cytowanie szeregu pozycji jest niespójne, np. str. 22 a poz. 47; str. 18 a poz. 60; str. 19 a poz. 96, poz. 209 a poz. 210, str. 20 a poz. 244, str. 20 a poz. 249.

Reasumując: uważam, że całość opracowania składająca się na pracę doktorską mgr inż. Martyny Wilk (dwie prace naukowo-badawcze opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych oraz niepublikowane wyniki badań własnych) stanowi oryginalne przedstawienie problemu naukowego wskazujące na możliwość praktycznego wykorzystania kiszonek w żywieniu przeżuwaczy o niższych wymaganiach energetycznych, ale też udowadnia (mimo, że uzyskane wyniki nie są jednoznaczne), że zastosowanie dodatku *Lactobacillus buchneri* do zakiszania biomasy całych roślin Sucrosorgo 506 lub wycieków z tych roślin w celu optymalizacji jakości kiszonki, ma również pozytywny wpływ na profil fermentacji oraz proces biometanacji w żwacu.

Dysertacja reprezentuje dobry poziom merytoryczny. Wnosi wkład w rozwój dyscypliny naukowej zootechnika i rybactwo i posiada znaczenie aplikacyjne. Wykonanie tego typu badań wymagało dużego zaangażowania i wkładu pracy, współpracy i znajomości technik analitycznych i badawczych. Jednocześnie należy podkreślić, że wykazane niedociągnięcia i nieścisłości mają charakter uwag redakcyjnych i nie wpływają na wartość merytoryczną całego opracowania.



Mam też do Doktorantki kilka pytań, które nasuwają się podczas oceny pracy:

1. W badaniach wykorzystano jedną z roślin kiszonkarskich. Skąd taki, a nie inny wybór surowca do badań? Czy widzi Pani kolejne źródła alternatywnych roślin kiszonkarskich tego typu, zwłaszcza możliwych do uprawy i wykorzystania w Polskich warunkach? Jeśli nie ma krajowych alternatyw, to dlaczego?
2. W realizowanych badaniach wykorzystwała Pani określony dodatek kiszonkarski. Proszę uzasadnić wybór tego konkretnie preparatu. Czy w Pani opinii zastosowany dodatek, wykorzystany przy zakiszaniu innych surowców kiszonkarskich (jakich?) będzie działać analogicznie?
3. Jakie są najważniejsze wnioski wynikające z Pani badań jako całości? Jakie widzi Pani możliwości praktycznego zastosowania uzyskanych wyników w obecnej chwili, w Polsce? A może już są one wdrażane w praktyce?

IV. Wniosek końcowy

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Martyny Wilk oparta jest na dwóch pracach naukowych opublikowanych w renomowanych czasopismach oraz opisie dodatkowych niepublikowanych wynikach badań własnych. Praca ogółem reprezentuje dobry poziom merytoryczny. Wykonanie badań wymagało nie tylko znacznego zaangażowania i wkładu pracy, ale również współpracy oraz dobrej znajomości technik i metod badawczych. Autorka sformułowała hipotezy badawcze oraz cel główny i cele szczegółowe badań naukowych, które następnie osiągnęła. Doktorantka wykazała się umiejętnością opracowania uzyskanych wyników, również tych nieopublikowanych w czasopismach naukowych, a stanowiących integralną całość. W pracy zgromadzono i cytowano głównie wartościową literaturę przedmiotu.

Pracę doktorską mgr inż. Martyny Wilk oceniam pozytywnie. Dysertacja doktorska jest wartościowa zarówno pod względem naukowo – badawczym jak i aplikacyjnym. Rozprawa wnosi znaczący wkład w rozwój dziedziny nauk rolniczych w dyscyplinie naukowej zootechnika i rybactwo. Zostały spełnione warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 poz. 882) w związku z art. 179 ust. 1 oraz art. 179 ust. 3 pkt 2b Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1669 ze zm.).

W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr inż. Martyny Wilk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin, dn. 31 stycznia 2022 r.

*Khebaniruk
Leuske*