

Recenzja Rozprawy Doktorskiej

mgr inż. Edyty Wojtas-Turalskiej

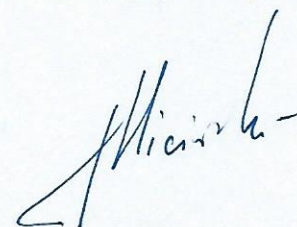
pod tytułem: „**Zastosowanie lecytyny sojowej w żywieniu krów w okresie okołoporodowym a stan ich zdrowia, jakość siary i poziom odporności cieląt**”

Promotor: prof. dr hab. inż. Andrzej Zachwieja

Ocena rozprawy została dokonana na potrzeby Rady Dyscypliny Naukowej Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

Dość istotnym problemem w hodowli bydła mlecznego w Polsce jest długość użytkowania krów, która u dominującej rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, będącej pod oceną użytkowości, wynosi 2,6 laktacji. W takim przypadku wskaźnik ekonomicznej opłacalności produkcji mleka nie satysfakcjonuje hodowcę. Taka krowa nie dość, że nie uzyskuje swojej maksymalnej wydajności życiowej, gdyż nie dożywa do 3 i 4 laktacji, to jeszcze zwiększa koszty produkcji mleka, gdyż jej wychów nie zostaje w pełni zamortyzowany przez krótki czas jej użytkowania.

Doktorantka słusznie zauważa, że newralgicznym czasem podczas użytkowania krów mlecznych jest okres okołoporodowy, zawężony do tzw. okresu przejściowego, czyli 3 tygodnie przed wycieleniem i 4 tygodnie po wycieleniu krowy. W okresie tym występuje zazwyczaj ujemny bilans energetyczny, który u krów wysoko wydajnych trudno jest zniwelować prawidłowym żywieniem. Spadek apetytu u krów w tym okresie może być tak wyraźny, że spotęguje ten deficyt doprowadzając w ostateczności do pojawienia się szeregu schorzeń metabolicznych. Szereg błędów żywieniowych, mogących pojawić się w tym okresie, doprowadzić może do wybrakowania krowy. Autorka zwraca uwagę, że jednym z takich błędów jest tzw. przekondycjonowana krowa, czyli nadmiernie opasiona, u której prawdopodobieństwo wystąpienia zaburzeń metabolicznych w okresie okołoporodowym jest bardzo wysokie, gdyż występuje silna mobilizacja rezerw tłuszczowych z tkanki podskórnej oraz wysoki wzrost stężenia niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych we krwi. Doktorantka słusznie podaje, że problem ten narasta, gdy w wyniku utraty



apetytu spada poziom glukozy we krwi i występuje coraz wyższy poziom ciał ketonowych i triglicerydów.

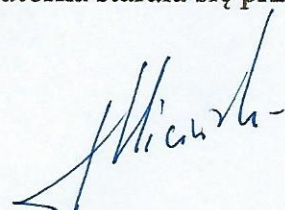
Większość hodowców stosuje wówczas podaż gliceryny lub glikolu propylenowego, jednak zbyt wysoka podaż tych suplementów może wywołać działanie toksyczne przez nadprodukcję gazów zawierających siarkę. Poszukiwanie innych suplementów doprowadziło do wskazania lecytyny sojowej jako skuteczniejszego i bardziej skutecznego i bardziej prozdrowotnego suplementu dla krów, gdyż wspomaga pracę wątroby i układu immunologicznego.

Dlatego też postawiła hipotezę badawczą twierdząc, że lecytyna sojowa jest mieszaniną fosfolipidów o dobrych właściwościach przeciwutleniających a dodatek lecytyny sojowej do dawki pokarmowej krów otluszczonych w okresie okołoporodowym doprowadzi do stabilizacji parametrów biochemicznych, antyoksydacyjnych oraz profilu lipidowego krwi krów, a także wpłynie na poprawę składu podstawowego i właściwości fizykochemicznych siary, wzrost IgG w siarze oraz w surowicy cieląt po jej pobraniu.

W tym znaczeniu pracę uważam za oryginalną, gdyż Autorka śledząc dane z wielu badań poszukiwała czynników wpływających na poprawę zdrowotności krów w okresie okołoporodowym i cieląt w okresie wychowu, co w efekcie pozytywnie przełożyłoby się na ekonomiczny wskaźnik opłacalności produkcji mleka.

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska pani mgr inż. Edyty Wojtas-Turalskiej liczy 113 stron maszynopisu. Po pierwszych 8 stronach wprowadzających, Doktorantka zamieściła na 2 stronach „objaśnienia skrótów”, które ułatwiają dalsze korzystanie z tekstu pracy. Kolejne rozdziały to „Wstęp” (3 strony) i szeroko ujęty „Przegląd piśmiennictwa” (23 strony). Jedną stronę stanowi „cel pracy” i „hipotezy badawcze”. Rozdział „Materiał i metody” przedstawiono na 8 stronach, a „Omówienie wyników i dyskusja” stanowi 22-u stronicowe opracowanie. Praca zawiera także 10 tabel, rysunek i 2 fotografie. „Podsumowanie i wnioski” stanowią 2 strony, a na 42 stronach przedstawiono „Piśmiennictwo”, obejmujące imponująco obszerną bazę 486 publikacji w większości aktualnych, oryginalnych i anglojęzycznych artykułów naukowych.

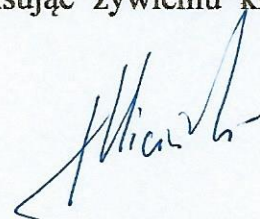
Układ rozprawy doktorskiej jest typowy dla tego typu prac. Bardzo obszerne piśmiennictwo narusza nieco przyjęty na ogół układ treści czyniąc ten rozdział dominującym, przedstawione na 42 stronach narusza nieco tę proporcję. Przegląd piśmiennictwa stanowi dość obszerną syntezę potrzeb krów w okresie tzw. okołoporodowym ze zwróceniem uwagi na pozytywne wykorzystanie przez organizm krów lecytyny sojowej. Na początku tego rozdziału Autorka starała się przedstawić



znaczenie kondycji krów w aspekcie zdrowotnym oraz jej wpływu na wydajność i skład mleka. Stwierdziła, że zmiany kondycji krów są wynikiem nagromadzenia lub utraty tkanki tłuszczowej, a proces ten zachodzi podczas każdej laktacji. Hodowca powinien samodzielnie dokonać oceny kondycji krów metodą wzrokowo-palpacyjną według 5-cio punktowej skali BCS (Body Condition Score), gdyż jest to ocena wiarygodna i bardzo pomocna przy monitorowaniu stanu zdrowia i poprawności żywienia krów. Aby zachować prawidłowy stan metaboliczny, należy tak żywić krowę, aby wchodząc w okres zasuszenia, miała ona kondycję na poziomie 3,25-3,75 pkt. BCS. Doktorantka słusznie podkreśla, że oceniając prawidłowość stanu metabolicznego krów, koncentrujemy się na ocenie poziomu: glukozy, niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych (NEFA) oraz kwasu beta-hydroksymasłowego (BHBA). U krów nadmiernie otluszczonych mogą występować wysokie poziomy NEFA i BHBA we krwi, spowodowane nadmierną lipomobilizacją oraz hipoglikemią, co sprzyja także zjawisku immunosupresji. A zatem krowy te są bardziej narażone na występowanie chorób metabolicznych jak. ketoza, przemieszczenie trawieńca, zatrzymanie łożyska, zapalenie macicy, a w dalszej konsekwencji może powstać u nich hiperglikemia i hiperinsulinemia, co może spowodować trwałe uszkodzenie trzustki oraz predysponować do powstania zapalenia gruczołu mlekowego i ochwatu. Kontynuując ten tok myślowy Doktorantka w dalszym opisie podaje, że krowy otluszczone przed wycieleniem w pierwszych tygodniach laktacji, mają niedostateczny wzrost pęcherzyków jajnikowych, opóźnienie lub brak owulacji, jak również są bardziej narażone na powstawanie torbieli jajnikowych.

W podrozdziale „Lecytyna sojowa i jej wpływ na wyniki produkcyjne krów” Doktorantka skupiła swoją uwagę na opisie lecytyny sojowej i jej wpływu na procesy metaboliczne zachodzące w organizmie krów, które decydują o ich produktywności. Doktorantka nie podaje jednak w tym rozdziale wyników produkcyjnych krów, dlatego bardziej trafną nazwą byłoby „lecytyna sojowa i jej wpływ na procesy metaboliczne związane z produktywnością krów”.

W podrozdziale „Zmiany składu i właściwości fizykochemicznych siary” Autorka słusznie zauważa, że o jakości siary decydują przede wszystkim immunoglobuliny, które determinują poziom odporności biernej cieląt. Siara dobrej jakości, pozyskana z pierwszego doju po wycieleniu, powinna zawierać co najmniej 50 gramów IgG w jednym litrze, co pozwala na pobranie od 150 do 200 gramów IgG przez cielęta w krótkim czasie od urodzenia. Następnie Doktorantka wnikliwie opisuje czynniki mające wpływ na wartość pokarmową siary, gwarantującą prawidłowy wzrost i rozwój cielęcia w okresie wychowu. Szczególną uwagę przypisując żywieniu krów, jako



najistotniejszemu czynnikowi środowiskowemu mającemu wpływ na zmiany składu i właściwości fizykochemiczne siary.

Kolejnym podrozdziałem jest „Żywienie siarą a poziom immunoglobulin w surowicy cieląt”, w którym dużą uwagę Autorka skupiła na aspekcie żywienia siarą cieląt, prawidłowo podkreślając jej znaczenie w odporności biernej cieląt, która zależy od poziomu przeciwciał w sianie, stopnia pobrania ich przez jelito i wysycenia nimi surowicy cielęciami. Jeżeli chodzi o hipotezy badawcze to jednoznacznie stwierdzam, że zostały one poprawnie postawione i sformułowane.

Po prawidłowym określeniu problemu badawczego, mającego charakter aplikacyjny i sformułowaniu celu badań, Doktorantka przystąpiła do opracowania metodyki badawczej, którą opisała w kolejnych etapach w rozdziale „Materiał i metody”. Na początku podała metodę identyfikacji kwasów tłuszczowych w lecytynie sojowej przy pomocy cienkowarstwowej chromatografii cieczowej (ocena jakościowa) i za pomocą chromatografu gazowego (ocena ilościowa). Prosiłbym przy tej części metodyki, aby zamienić w tekście rys. 1 i rys. 2 na fot. 1 i fot. 2, gdyż nie są to rysunki a fotografie. W kolejnym podrozdziale części metodycznej pracy Doktorantka opisuje metodę Brandta – Williamsa i wsp. z użyciem syntetycznego rodnika DPPH, dotyczącą określenia właściwości antyoksydacyjnych lecytyny sojowej. Następnie swoją uwagę skupia na gospodarstwie i materiale doświadczalnym. Autorka podaje, cytując: „Analizą objęto 30 krów oraz 30 cieląt”.

W podrozdziale „Ocena stopnia otluszczenia krów (BCS) – wybór zwierząt do doświadczenia” Autorka podaje, że kondycja wybranych 30 krów do doświadczenia, w okresie zasuszenia właściwego przekraczała wartość 4 pkt w skali BCS. W tym miejscu należałoby dokładniej opisać wybór materiału doświadczalnego, podać chociażby wiek krów (jakie laktacje), rozrzut wycieleń, wskaźniki cyklu produkcyjnego i reprodukcyjnego tych krów. Jakimi kryteriami wyboru kierowano się wybierając 30 krów do badań ze stawki 230 szt. które były użytkowane w gospodarstwie. Czy kondycja była oceniana u całej stawki 230 krów, czy krowy o kondycji wynoszącej równo 4 pkt. BCS wchodziły do doświadczenia, jaka była średnia kondycja tych 30 krów włączonych do eksperymentu?

W rozdziale „Kontrola porodów i postępowanie z cielęciem po urodzeniu” Autorka w jasny i przejrzysty sposób podaje w jaki sposób postępowano z cielęciem po jego urodzeniu. Ten rozdział

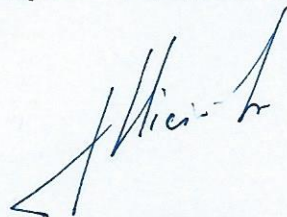
można by jeszcze doprecyzować, podając ile siary otrzymywały cielęta w pierwszej dobie po urodzeniu?

Pewne niejasności pojawiają się także w podrozdziale „Zastosowanie lecytyny sojowej w żywieniu krów”. Autorka powinna uszczegółowić niektóre z zapisów, np. cytując: lecytynę sojową w formie proszku podawano indywidualnie” a następnie pisze, cytując” raz dziennie z dawką TMR w ilości 40 gramów na sztukę”. Jak sądzę była to dawka przeliczeniowa i jej podaż danej krowie mógł zależeć od wielu czynników, w tym, np. od równomiernego stopnia wymieszania lecytyny w dawce TMR lub też ilości pobranej suchej masy przez krowę. Proszę podać jak technicznie przebiegało podawanie lecytyny sojowej krowom w grupie doświadczalnej. Ostatnim podrozdziałem w części metodycznej jest „Metody analiz i oznaczeń”. Doktorantka w sposób prawidłowy opisała jakie parametry oznaczano w próbkach siary a jakie w surowicy i osoczu. Jedynie w przypadku peroksydazy glutationowej Autorka powinna bardziej sprecyzować czy oznaczała ją w surowicy czy w pełnej krwi? Jeżeli oznaczenia wykonywała w pełnej krwi (bo takie oznaczanie jest prawidłowe) wówczas jednostką powinno być U/litr hemoglobiny. Także metoda oznaczania UV powinna być dokładniej opisana.

Charakteryzując część metodyczną Doktorantka nie ustrzegła się pewnych niedomówień, które jednak w żaden sposób nie podważają prawidłowości i nie umniejszają wartości pracy. Należy przy tym zwrócić uwagę na kompleksowość przeprowadzonych analiz, precyzję ich wykonania oraz samodzielność Doktorantki w przeprowadzaniu oznaczeń.

Zasadniczą częścią rozprawy doktorskiej jest rozdział „Omówienie wyników i dyskusja”. W rozdziale tym Doktorantka w sposób szczegółowy opisała i zinterpretowała uzyskane wyniki wykazując się dużą wiedzą w poruszanych zagadnieniach a także odniosła je do rezultatów badań uzyskanych przez innych autorów. Jednakże z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na pewne kwestie zamieszczone w tym rozdziale:

1. Na stronie 49 Autorka podaje, cytując: „Dlatego udział kwasu C_{16:0} w dawce pokarmowej krów na początku laktacji powinien być limitowany” i tutaj nasuwa się pytanie: - do jakiego poziomu powinien być limitowany ten udział?
2. Na stronie 53 – Autorka pisze: Za dodatkowy wskaźnik uznano wysoką wartość OLD” – nasuwa się więc pytanie wskaźnik czego?
3. Na stronie 55 – „większą predyspozycję do produkcji siary o niskiej gęstości posiadają krowy cielące się po raz pierwszy (pierwiastki) w okresie wiosennym i letnim z subklinikzną

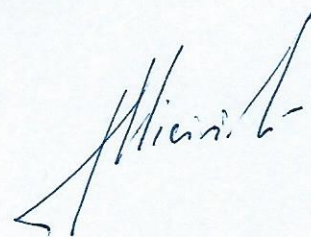


i kliniczną postacią mastitis. Z przeprowadzonych badań wynika jednak, że jedynie podwyższona LKS, a więc i możliwe stany zapalne gruczołu mlekowego krów, mogły skutkować obniżeniem ciężaru właściwego siary” – te informacje są bardzo ważne przy wyborze krów do badań, stąd było to moje wcześniejsze pytanie jakie kryteria uwzględniano przy wyborze krów do badań?

4. Na stronie 57 Doktorantka w tekście stosuje skrót NEFA (niezestryfikowane kwasy tłuszczowe), natomiast w tabeli 7 podaje skrót WKT (wolne kwasy tłuszczowe).
5. Na stronie 58 Autorka pisze, że, cytuję „poziom WKT przyjmował tendencję wzrostową w grupie kontrolnej a z kolei malejącą w grupie krów doświadczalnych”, co oznacza, że dodatek lecytyny zmniejszał lipolizę tkanki tłuszczowej. Należałoby poprzeć to stwierdzenie szerszą dyskusją.
6. Na stronie 62 Autorka podaje, że stężenie cholesterolu HDL w badaniach własnych był dwukrotnie wyższy od uzyskanych przez Klebaniuk i Rokickiego. Czym należałoby to tłumaczyć?
7. Na stronie 67 należy dokładnie zaznaczyć, że o poziomie odporności biernej cieląt świadczy koncentracja IgG w surowicy w 48 godzinie ich życia, bowiem 24 godzina jest zbyt wczesna do tej oceny.
8. Na stronie 63 należy „poziom enzymu GPx” zamienić na” aktywność enzymu GPx”.

Warto podkreślić, że w rozdziale tym Doktorantka dyskusję przeprowadziła na bardzo licznym piśmiennictwie dotyczącym zagadnień poruszanych w pracy doktorskiej.

Konkluzje wynikające z badań, Doktorantka zawarła w rozdziale „Podsumowanie i wnioski”, które bardziej jest podsumowaniem, gdyż nie zawarto w nim żadnego wniosku. A zatem w podsumowaniu Doktorantka słusznie wykazała najwyższą zdolność lecytyny sojowej do redukcji rodnika DPPH na początku okresu inkubacji, w niskich rozcieńczeniach, co może świadczyć o jej właściwościach do opóźnienia i zapobiegania reakcjom utlenienia, na których występowanie krowy mleczne są narażone w początkowym okresie laktacji. Ponadto w siarze krów grupy doświadczalnej wykazała: wyższą zawartość suchej masy, białka oraz wyższą koncentrację IgG; niższą wartość LKS i OLD; wyższy poziom kwasowości potencjalnej i gęstości oraz niższy kwasowości czynnej, oporności i termostabilności, co może wskazywać na poprawę stanu zdrowia gruczołu mlekowego a także determinować jakość siary.



Wyniki przeprowadzonych badań jednoznacznie wykazały, że zastosowanie lecytyny sojowej jako dodatku w żywieniu odtuszczonej krowy mlecznej w okresie okołoporodowym, może być efektywne i wpłynąć na poprawę statusu metabolicznego, stanu jej zdrowia oraz składu, właściwości fizykochemicznych i jakości immunologicznej produkowanej siary. Można zatem zakładać, że podwyższony poziom odporności biernej cieląt przełoży się na ograniczenie występowania schorzeń i poprawi ich wskaźniki odchowu.

Uwzględniając wszystkie aspekty przedstawionej mi do oceny pracy, w szczególności zaś szerokie spektrum badań, począwszy od stanu zdrowotnego krowy, jakości pozyskiwanej siary, po aspekt odporności biernej cieląt i poprawę ich statusu zdrowotnego stwierdzam, że Doktorantka poruszyła ważny, z punktu widzenia nauki i praktyki, aspekt związany z poprawą długowieczności krowy (zmniejszone brakowanie) i lepszym odchowem cieląt (więcej cieliczek na remont stada). Pomimo kilku wskazanych uwag, wymagających doprecyzowania by podnieść aspekt dyskusyjny, praca wnosi wiele wartościowych i ciekawych treści, możliwych do bezpośredniego wdrożenia przez hodowców bydła mlecznego. Pragnę także zwrócić uwagę na duży nakład pracy związany z pobieraniem próbek paszy, siary, krwi, a następnie wykonywanych analiz laboratoryjnych, opracowań statystycznych, co wymagało od Doktorantki niewątpliwie samodzielności i jej osobistego zaangażowania w całość przeprowadzanych badań.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska pt.: „Zastosowanie lecytyny sojowej w żywieniu krowy w okresie okołoporodowym a stan jej zdrowia, jakość siary i poziom odporności cieląt” wnosi cenne, aplikacyjne dane do dyscypliny zootechniki i rybactwo i poszerza wiedzę, szczególnie w aspekcie prawidłowego żywienia krowy w okresie okołoporodowym i prawidłowego odchowu cieląt. Stwierdzam także, że praca ta spełnia warunki stawiane pracom doktorskim, określone w 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. 2016 poz. 882 ze zm.) 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.) i przedstawiam wniosek Radzie Dyscypliny Naukowej Zootechniki i Rybactwo, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr inż. Edyty Wojtas-Turalskiej do publicznej obrony.

Olaf Jędrzejko, 1.06.2023 ✓

