

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr Modou Mangan
pt. „Impact of selected bioactive substances delivered *in ovo* on gut health and production
performance of broiler chickens”
(tł. „Wpływ wybranych substancji bioaktywnych dostarczanych *in ovo* na zdrowie jelit i wyniki
produkcyjne kurcząt brojlerów”)

Niniejsza recenzja została sporządzona na podstawie pisma dr. hab. inż. Jakuba Bieska, prof. PBŚ - Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich, informującego o moim powołaniu na recenzenta rozprawy doktorskiej Pana mgr Modou Mangan pt. „Impact of selected bioactive substances delivered *in ovo* on gut health and production performance of broiler chickens” (tł. „Wpływ wybranych substancji bioaktywnych dostarczanych *in ovo* na zdrowie jelit i wyniki produkcyjne kurcząt brojlerów”). Decyzja o powołaniu została podjęta uchwałą nr 14/8/2024/2025 Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo podczas posiedzenia w dniu 28 marca 2025 r. Podstawę prawną oceny stanowią przepisy Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r., poz. 1571).

Rozprawa doktorska została przygotowana w Katedrze Biotechnologii i Genetyki Zwierząt Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Politechniki Bydgoskiej, pod kierunkiem promotor prof. dr hab. Marii Siwek-Gapińskiej (Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich) oraz drugiej promotor - prof. dr rer. nat. habil. Cornelia C. Metges (Research Institute for Farm Animal Biology; Dummerdorf, Niemcy). Badania zostały sfinansowane w ramach programu Unii Europejskiej Horyzont 2020 na podstawie umowy grantowej nr 955374 (projekt MonoGutHealth).

Ogólna charakterystyka rozprawy

Rozprawa doktorska zatytułowana „Impact of selected bioactive substances delivered *in ovo* on gut health and production performance of broiler chickens” (tł. „Wpływ wybranych substancji bioaktywnych dostarczanych *in ovo* na zdrowie jelit i wyniki produkcyjne kurcząt brojlerów”) została przygotowana w oparciu o cykl trzech opublikowanych artykułów naukowych powiązanych tematycznie, w tym jednej pracy przeglądowej i 2 oryginalnych artykułów:

1. Modou Mangan and Maria Siwek, Strategies to combat heat stress in poultry production-A review, Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Wiley online library) 2024 December;108(3):576-595. doi: 10.1111/jpn.13916. MNiSW points 2024:100, Impact Factor 2024: 2,2
2. Modou Mangan, Patrycja Reszka, Katarzyna Połtowicz and Maria Siwek, Effects of Lactiplantibacillus plantarum and galactooligosaccharide administered in ovo on hatchability, chick quality, performance, cecal histomorphology and meat quality traits of broiler chickens, Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Wiley online library) 2024 December. doi: 10.1111/jpn.14082. MNiSW 2024: 100, Impact Factor 2024: 2,2
3. Modou Mangan, Katarzyna Połtowicz, Cornelia C. Metges and Maria Siwek, Modulatory effects of in ovo delivery of galactooligosaccharide and Lactiplantibacillus plantarum on antioxidant capacity, gene expression and selected plasma metabolite parameters of broiler chickens, Journal of Applied Genetics (Springer) 2024 December. doi:10.1007/s13353-024-00931-7. MNiSW 2024: 140, Impact Factor 2024: 2,0



Przedstawione w cyklu prace opublikowano w roku 2024 w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR), takich jak Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (2 prace) oraz Journal of Applied Genetics. Współczynnik Impact Factor (IF) tych czasopism wynosił odpowiednio: 2,2 oraz 2,0. Wartość punktów MNiSW za publikacje to odpowiednio: 100, 100 oraz 140. Łączny Impact Factor cyklu publikacji wynosi 6,4, a suma uzyskanych punktów ministerialnych to 340.

Wszystkie prace mają charakter współautorski, przy czym we wszystkich Doktorant jest zarówno pierwszym, jak i korespondencyjnym autorem. W przedstawionym oświadczeniu Doktorant wskazał swój istotny wkład w przygotowanie publikacji, obejmujący m.in. planowanie i opracowanie treści artykułu przeglądowego, kwerendę literaturową, redakcję oraz korektę manuskryptu. W przypadku artykułów oryginalnych zakres jego zaangażowania obejmował współudział w planowaniu i przeprowadzeniu doświadczeń, zbieranie materiału badawczego, analizy laboratoryjne, opracowanie wyników, przygotowanie manuskryptów, a także ich korekty podczas procesu recenzyjnego. Zakres zaangażowania Doktoranta wskazuje na Jego kluczową rolę w realizacji badań oraz w opracowywaniu wyników zaprezentowanych w cyklu publikacji.

Rozprawa doktorska została przygotowana w języku angielskim i obejmuje wprowadzenie do tematyki badań, zestawienie artykułów naukowych stanowiących jej podstawę oraz uzasadnienie spójności tematycznej cyklu publikacji. Uwzględniono w nim wykaz skrótów, symboli i stosowanych jednostek, a także przedstawiono hipotezę badawczą, cele oraz zakres przeprowadzonych prac. Kolejne części pracy zawierają opis materiałów i metod badawczych, prezentację wyników oraz ich omówienie, również w kontekście dostępnej literatury naukowej, a także część dotyczącą ograniczeń zastosowanego protokołu. Całość zamyka podsumowanie głównych obserwacji i wnioski, bibliografia, streszczenia w języku angielskim i polskim, a także załączniki obejmujące kopie publikacji oraz oświadczenia autorów. Całkowita objętość rozprawy, bez uwzględnienia streszczenia w języku polskim i załączników, wynosi 62 strony.

Ocena merytoryczna

We wprowadzeniu Doktorant przedstawia aktualny stan wiedzy na temat znaczenia mikrobioty jelitowej brojlerów, podkreślając jej kluczową rolę w m.in. kształtowaniu odporności, rozwoju morfologicznym przewodu pokarmowego oraz wpływie na łagodzenie stresu środowiskowego i wyniki produkcyjne. W syntetyczny sposób przedstawia zarówno pozytywne aspekty stosowania antybiotyków w produkcji drobiarskiej- takie jak poprawa wskaźników produkcyjnych i zdrowotności, jak i związane z nimi zagrożenia, w tym rozwój oporności drobnoustrojów oraz ryzyko dla bezpieczeństwa żywności i zdrowia publicznego. Wskazuje tym samym na konieczność poszukiwania skutecznych i bezpiecznych alternatyw, ze szczególnym uwzględnieniem technologii *in ovo*, obejmującej zarówno żywienie (*in ovo* feeding; iniekcja substancji w 14 -18 dniu rozwoju embrionalnego), jak i stymulację (*in ovo* stimulation; iniekcja substancji bioaktywnych w 12 dniu rozwoju). W tej części opracowania Doktorant omawia też znaczenie okresu okołolęgowego, wskazując na jego kluczową rolę w determinowaniu dalszego rozwoju, zdrowotności i potencjału produkcyjnego ptaków. Technologia stymulacji *in ovo* została przedstawiona jako innowacyjne i potencjalnie bezpieczniejsze od *in ovo* feeding podejście, umożliwiające wczesną modulację mikrobioty jelitowej, wspieranie dojrzewania układu odpornościowego, poprawę jakości piskląt oraz ogólną poprawę zdrowotności i produktywności brojlerów. Następnie Doktorant formułuje ogólnie cele rozprawy, które obejmują zarówno ocenę właściwości probiotyków i prebiotyków *in vitro*, jak i walidację *in vivo* najbardziej obiecujących pod kątem ich wpływu na kształtowanie się parametrów zdrowotnych, fizjologicznych i produkcyjnych brojlerów linii Ross 308.

W mojej ocenie ta część rozprawy, przygotowana jako wprowadzenie do problematyki prezentowanych badań, została opracowana poprawnie. Warto byłoby jednak wyraźniej zaakcentować nowatorski charakter podejścia przyjętego przez Doktoranta w kontekście sformułowanego problemu badawczego.

AAO²

Zasadne byłoby również poszerzenie wprowadzenia o odniesienie do stresu cieplnego i oksydacyjnego, zwłaszcza że jednym z kryteriów doboru substancji bioaktywnych w badaniach *in vitro* była ich zdolność do neutralizacji wolnych rodników. Umożliwiłoby to również lepsze powiązanie treści publikacji przeglądowej, skądinąd bardzo obszernej i kompleksowej, lecz koncentrującej się głównie na zagadnieniach stresu cieplnego i oksydacyjnego, z zakresem badań zaprezentowanym w dwóch publikacjach oryginalnych.

Rozdział „Hipoteza, cele i zakres badań” zawiera sformułowaną hipotezę badawczą oraz zestaw celów, głównego i szczegółowych, a także zakres realizowanych badań. Hipoteza zakłada, że stymulacja *in ovo* brojlerów przy użyciu wybranych bioaktywnych substancji- *Lactiplantibacillus plantarum* (LP) oraz galaktooligosacharydu (GOS), w 12. dniu rozwoju embrionalnego wpłynie modulująco na zdrowie jelit, wzmocni ich rozwój, funkcjonowanie układu odpornościowego oraz poprawi wyniki produkcyjne. Cel główny rozprawy sformułowany został jako poprawa zdrowia jelit oraz efektywności produkcyjnej brojlerów poprzez programowanie mikrobiomu *in ovo*. Cele szczegółowe obejmują: (1) selekcję na podstawie badań *in vitro* probiotyków i prebiotyków, które mogą wzmacniać zdrowotność i produktywność kurcząt brojlerów (2) optymalizację dawek substancji do podania *in ovo* oraz (3) ocenę wpływu substancji bioaktywnych zastosowanych *in ovo* na jakość mięsa i wskaźniki poubojowe. Wskazane byłoby doprecyzowanie trzeciego celu poprzez uwzględnienie także parametrów fizjologicznych, zdrowotnych oraz produkcyjnych ocenianych w badaniach *in vivo*, co lepiej odzwierciedlałoby rzeczywisty zakres przeprowadzonych analiz.

Przedstawiony w dalszej części zakres badań obejmuje dwa powiązane etapy badawcze: selekcję substancji bioaktywnych *in vitro* oraz ich aplikację *in ovo* u brojlerów Ross 308. W badaniu przesiewowym zastosowano test wzrostu oraz test DPPH do oceny aktywności antyoksydacyjnej, na podstawie których wyłoniono szczep *Lactiplantibacillus plantarum* oraz galaktooligosacharydy (GOS) jako najbardziej obiecujące do dalszych badań. Autor w tej części wskazał, że wybór GOS oparto na wcześniejszych publikacjach zespołu. Zastosowano w dalszej kolejności iniekcję substancji do komory powietrznej jaja w 12. dniu rozwoju embrionalnego. Doktorant przedstawił szeroki zakres zaplanowanych i wykonanych badań obejmujący analizę składu mikroflory pod kątem względnej obfitości bakterii *Lactobacillus* spp. i *Bifidobacterium* spp. w próbkach kałomoczu oraz treści jelit ślepych, parametry morfometryczne tkanki jelit ślepych, ekspresję genów związanych z odpornością i statusem antyoksydacyjnym, a także cechy rzeźne, jakość mięsa i wskaźniki biochemiczne osocza. Dla zwiększenia przejrzystości i ułatwienia odbioru, wskazane byłoby przedstawienie zakresu badań w układzie odzwierciedlającym rzeczywistą chronologię eksperymentu. W szczególności warto rozpocząć część dotyczącą walidacji *in vivo* od badań dotyczących wpływu zastosowanej stymulacji *in ovo* na wylęgowość oraz jakość nowo wyklutych piskląt, a następnie przejść do prezentacji zakresu badań realizowanych w trakcie odchowu kurcząt oraz analiz materiału zgromadzonego po jego zakończeniu.

Przechodząc do syntetycznego opisu zakresu zrealizowanych badań i ich kluczowych wyników, w pierwszym etapie przeprowadzono ocenę wzrostu oraz zdolności zmiatania wolnych rodników przez wybrane szczepy bakterii probiotycznych (*Lactocaseibacillus rhamnosus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *casei*, *Limosilactobacillus reuteri*) z wykorzystaniem testu DPPH, co pozwoliło na wyłonienie szczepu *Lactiplantibacillus plantarum* (LP) o najwyższym potencjale antyoksydacyjnym (68,9% aktywności) oraz dawki na poziomie 1×10^6 CFU LP/jajo. Wybór galaktooligosacharydów (GOS) jako prebiotyku oraz jego dawki- 3.5 mg of GOS/jajo oparto na wcześniejszych publikacjach zespołu badawczego.

Właściwe badanie *in vivo* przeprowadzono na brojlerach Ross 308, którym w 12. dniu inkubacji jaja podawano *in ovo* LP, GOS lub sól fizjologiczną (grupa kontrolna pozytywna, PC). Schemat doświadczenia obejmował również grupę kontrolną negatywną (NC), w której jaja nie były poddawane żadnej iniekcji. Wyniki wykazały, że procedura iniekcji *in ovo*, mimo niewielkich różnic liczbowych względem grupy NC, nie miała wyraźnego negatywnego wpływu na wylęgowość. Co więcej, w grupie

GOS zaobserwowano najwyższy poziom wylęgowości spośród grup iniekcyjnych. Jednodniowe pisklęta z grup LP i GOS cechowały się istotnie wyższą masą ciała niż pisklęta z grupy kontrolnej negatywnej (odpowiednio 50 g i 47 g). W dalszym etapie oceniono wskaźniki produkcyjne brojlerów w trakcie 35. dniowego odchovu, w tym masę ciała, przyrosty masy ciała, pobranie paszy (FI) oraz jej wykorzystanie (FCR). Stwierdzono, że w 7. dniu życia kurczęta z grupy LP charakteryzowały się istotnie wyższą masą ciała (195,2 g) w porównaniu do wszystkich pozostałych grup. W późniejszych tygodniach odnotowano zbliżone wskaźniki wzrostowe pomiędzy wszystkimi grupami, choć na końcu odchovu w grupach LP i GOS obserwowano tendencję do wyższej masy ciała.

W analizie cech rzeźnych oraz jakości mięsa nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami, z wyjątkiem strat chłodniczych, które były istotnie niższe u brojlerów z grupy LP w porównaniu do grupy PC. Może to świadczyć o lepszych właściwościach mięsa w zakresie zdolności do zatrzymywania wody. Dodatkowo, w grupach traktowanych *in ovo* LP i GOS odnotowano wyższe wartości pH mięśni piersiowych i nóg w 15 minucie od uboju, co również może wskazywać na korzystniejszą jakość mięsa. Pozostałe parametry nie wykazywały istotnych różnic między grupami.

Analiza względnej obfitości bakterii w próbkach kałomoczu wykazała statystycznie istotne zwiększenie liczebności *Lactobacillus* spp. w grupach GOS i LP, począwszy od 7. dnia życia aż do zakończenia doświadczenia, przy czym silniejszy efekt stymulujący obserwowano w grupie GOS. W przypadku *Bifidobacterium* spp. zarówno w grupie GOS, jak i LP odnotowano istotny wzrost liczebności tych bakterii w kałomoczu z 34. dnia życia, również z bardziej wyraźnym efektem w grupie GOS. W treści jelit ślepych zaobserwowano wzrost liczebności obu analizowanych grup bakterii, jednak w przypadku zarówno *Lactobacillus* spp., jak i *Bifidobacterium* spp. dominujący efekt obserwowano w grupie LP.

Badanie histomorfometryczne tkanki jelita ślepego wykazało istotnie wyższe wartości wysokości, szerokości oraz powierzchni kosmków jelitowych u ptaków z grup GOS i LP w porównaniu z PC. Parametry te wskazują na poprawę strukturalną powierzchni chłonnej jelita.

Analiza ekspresji genów w różnych tkankach (śledziona, wątroba, mięsień piersiowy, błona śluzowa jelita ślepego) wykazała szereg korzystnych zmian wynikających z zastosowania stymulacji *in ovo*. W błonie śluzowej jelita ślepego odnotowano istotną nadekspresję MUC6, AVBD1, IL-1 β i CATHL2 w grupach LP i GOS, a dodatkowo CLDN1 w grupie LP oraz FFAR2 w grupie GOS. W śledzionie istotnie zwiększyła się ekspresja SOD1 i IL4 w obu grupach iniekcyjnych, a IL12p40 i IL8 wyłącznie w grupie GOS. W mięśniu piersiowym wykazano wzrost ekspresji SOD1 i CAT w obu grupach, natomiast MnSOD i NRF2 tylko w GOS. W wątrobie IL1 β i Occludin uległy zwiększeniu w grupie LP, a GPx1 i NRF2 – w obu grupach iniekcyjnych.

W odniesieniu do parametrów biochemicznych osocza nie stwierdzono istotnych różnic w analizowanych wskaźnikach, z wyjątkiem istotnie wyższego poziomu cholesterolu LDL w grupie LP w porównaniu do grup PC i GOS. Jak zasugerował Doktorant, podwyższone stężenie LDL może wynikać z aktywacji przez LP kompensacyjnych mechanizmów metabolicznych, prowadzących przejściowo do zwiększonej syntezy lipidów.

Rozdział „Dyskusja” został opracowany zwięźle i w sposób spójny z zakresem tematycznym, którego dotyczyły prezentowane wyniki. Doktorant trafnie osadził uzyskane rezultaty w kontekście aktualnego stanu wiedzy, odwołując się do licznych źródeł literaturowych oraz wskazując możliwe mechanizmy działania zastosowanych substancji bioaktywnych.

Rozdział „Podsumowanie” stanowi syntetyczne podsumowanie wyników badań- od selekcji bioaktywnych substancji w badaniach *in vitro*, przez ich zastosowanie *in ovo* w modelu z użyciem gatunku docelowego- kurcząt brojlerów Ross 308, aż po wieloaspektową ocenę wpływu tych substancji na parametry fizjologiczne i produkcyjne ptaków. W rozdziale przytoczono najważniejsze wyniki, obejmujące m.in. brak negatywnego wpływu iniekcji *in ovo* na wylęgowość i jakość piskląt, wyższą masę ciała jednodniowych kurcząt w grupach LP i GOS, wzrost liczebności bakterii *Lactobacillus* spp.

i *Bifidobacterium* spp., korzystne zmiany histomorfometryczne w jelicie ślepym, istotną regulację ekspresji genów związanych z odpornością i stresem oksydacyjnym oraz brak istotnych różnic w cechach rzeźnych i jakości mięsa.

Rozdział kończy się następującym, kluczowym wnioskiem: „Stymulacja *in ovo* LP w dawce 1×10^6 oraz GOS w dawce 3,5 mg/jajo, podanych w 12. dniu rozwoju embrionalnego, modulowała mikrobiotę jelitową od okresu okołowylęgowego aż do końca życia brojlerów, poprawiała funkcje odpornościowe oraz parametry histomorfometryczne jelita ślepego, nie wpływając negatywnie na parametry produkcyjne.”

Bibliografia rozprawy obejmuje ponad 110 pozycji, a zakres chronologiczny cytowanej literatury obejmuje lata 1999-2024, z wyraźną dominacją publikacji z ostatnich pięciu lat. Dobór źródeł jest zatem aktualny, a także tematycznie spójny z zakresem pracy i obejmuje zarówno publikacje przeglądowe, jak i oryginalne m.in. z obszaru żywienia, immunologii, mikrobiologii oraz technologii *in ovo*.

Z obowiązku recenzenta przedstawiam poniżej pytania, komentarze i sugestie, które - w mojej ocenie - warto poruszyć w trakcie obrony pracy doktorskiej. Mają one na celu pogłębienie dyskusji naukowej i krytyczną refleksję nad szczegółami metodologicznymi oraz interpretacyjnymi rozprawy, a nie podważanie poprawności ogólnej koncepcji czy wartości naukowej badań.

Sugestie dotyczące konstrukcji doświadczenia i potencjalnych, uzupełniających kierunków badań:

- Cennym uzupełnieniem układu doświadczalnego mogłoby być włączenie grupy z zastosowaniem synbiotyku (probiotyku + prebiotyku), co pozwoliłoby na ocenę możliwego efektu synergistycznego.
- Z punktu widzenia poprawności analizy statystycznej parametrów produkcyjnych, zasadnym byłoby rozważenie w przyszłych badaniach podziału piskląt na powtórzenia utrzymywane w oddzielnych boksach.
- Analiza histomorfometryczna objęła wyłącznie jelito ślepe, podczas gdy ocena odcinków jelita cienkiego mogłaby dostarczyć istotnych danych funkcjonalnych, szczególnie w kontekście ich powiązania z parametrami produkcyjnymi.
- Rozszerzenie zakresu analiz mikrobiologicznych o oznaczenia mikrobioty przeprowadzone na pisklętach zaraz po wylęzieniu, oznaczenia bakterii potencjalnie patogennych, jak również uwzględnienie analizy SCFA (krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych) w treści jelitowej.
- Warto rozważyć również wykonanie oznaczeń statusu redoks w osoczu i/lub wątrobie, co mogłoby dopełnić wnioski dotyczące stresu oksydacyjnego i mechanizmów antyoksydacyjnych.

Pozostałe uwagi:

- W kontekście badań nad środowiskiem jelitowym, brak informacji o recepturach zastosowanych mieszanek paszowych (skład komponentowy receptur) stanowi ograniczenie dla pełnej interpretacji wyników.
- W treści metodologicznej nie przedstawiono źródła i producenta prebiotyku, co utrudnia ocenę ich standaryzacji i powtarzalności.
- Nie doprecyzowano, czy przed iniekcją jaj w 12. dniu inkubacji przeprowadzono dodatkową selekcję, ani ile jaj przypisano do poszczególnych grup na tym etapie.
- Opis procedur doświadczalnych w publikacjach miejscami sprawia wrażenie nieuporządkowanego i zbyt lakonicznego (np. sposób kolekcji próbek, liczba analizowanych prób, momenty pobrań). Ten aspekt znacznie dopracowano pisząc opracowanie.
- W tekstach i tabelach, zwłaszcza w publikacji 2, występują pewne niespójności – dotyczące np. masy ciała piskląt, powierzchni kosmków czy obecności grupy NC. W opisie wyników wskazano istotne różnice, których nie potwierdzają dane przedstawione graficznie lub tabelarycznie.

- Pojawiają się również rozbieżności między deklarowaną liczbą piskląt na kojec w publikacjach 2 i 3 (zapewne błąd edytorski, w opracowaniu rozprawy i publikacji 2- 25 szt./kojec)
- W sekcji wynikowej i w tabelach nie zawsze jednoznacznie rozróżniono, które grupy kontrolne (PC, NC) zostały włączone do danej analizy; niekiedy są wymienione w opisach, choć brak ich danych liczbowych.
- Sugeruję ponowne przeliczenie FCR 22-28 i FCR 29-35 dla grupy NC, oraz wskaźnika VH/CD w grupie GOS.
- Uwagi redakcyjne i językowe dot. opracowania: w opisach tabel (np. Tabela 5, 7) wskazano grupę NC, której dane nie zostały zaprezentowane; pod Tabelami 7 i 8 pojawia się odniesienie do analizy składu odżywczego mięsa, choć dane w tabelach tego nie odzwierciedlają; nie rozwinięto skrótu BW pod Tabelą 6; w niektórych miejscach uproszczono przekaz, np. „PCA showed no statistical differences”, mimo że analiza PCA nie służy do testowania istotności statystycznej.

Podsumowanie

Pomimo wskazanych w recenzji niedociągnięć, rozprawę oceniam pozytywnie. Praca podejmuje aktualne i istotne zagadnienia mieszczące się w zakresie dyscypliny zootechnika i rybactwo, koncentrując się na możliwościach wczesnego programowania mikrobioty jelitowej, a tym samym - poprawy zdrowia jelit oraz wzmocnienia odporności poprzez zastosowanie stymulacji *in ovo*. Zastosowana metoda stwarza perspektywę skuteczniejszego przygotowania piskląt do wyzwań środowiskowych już od pierwszych dni życia. W świetle globalnych trendów w produkcji drobiarskiej, ukierunkowanych na ograniczenie stosowania antybiotyków, wyniki badań przedstawione w rozprawie są szczególnie wartościowe. Warto zaznaczyć w tym miejscu, że doświadczenie *in vivo* przeprowadzono najprawdopodobniej w warunkach semiprodukcyjnych, charakteryzujących się wysokim reżimem sanitarnym i brakiem ekspozycji na stresory środowiskowe, takie jak stres cieplny czy infekcje. Może to częściowo tłumaczyć brak wyraźnych różnic w niektórych parametrach produkcyjnych i fizjologicznych. Niewykluczone, że w warunkach chowu wielkotowarowego, potencjał efektów wynikających ze stymulacji *in ovo* byłby bardziej widoczny.

Na uznanie zasługuje przemyślana koncepcja badawcza, obejmująca zarówno etap selekcji substancji w badaniach *in vitro*, jak i ich dalszą walidację w modelu *in vivo*. W pracy zastosowano szeroki wachlarz metod badawczych- od analiz mikrobiologicznych, poprzez ocenę histomorfometrii, tkanki jelitowej, ekspresji genów oraz wskaźników charakteryzujących wylęgowność i jakość piskląt po parametrów produkcyjne, jakości rzeźnej i jakości mięsa- co wskazuje na umiejętność Doktoranta do prowadzenia badań o charakterze interdyscyplinarnym oraz dobrą znajomość nowoczesnych narzędzi badawczych. Warto także podkreślić, że badania będące podstawą rozprawy zostały zrealizowane w ramach prestiżowego programu Horyzont 2020, co świadczy o zdolności Doktoranta do pracy w międzynarodowym środowisku badawczym

Podsumowując, stwierdzam że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr Modou Mangan spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim, określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. -Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. 2024 poz. 1571). W związku z powyższym, przedkładam Radzie Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich wniosek o dopuszczenie Pana mgr Modou Mangan do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,

Arczełło-włosek Anna

Anna Arczewska-Włosek