

Kraków, 23.01.2022 r.

Dr hab. Dorota Wojtysiak, prof. URK
Katedra Genetyki, Hodowli i Etologii Zwierząt
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Patrycji Reszki pt. „Wpływ pożytecznych mikroorganizmów EM na wyniki produkcyjne, śluzówkę jelita czczego oraz jakość mięsa świń”.

Praca doktorska Pani mgr inż. Patrycji Reszki została wykonana na Wydziale Hodowli i Biologii Zwierząt w Katedrze Fizjologii Zwierząt i Zoofizjoterapii Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy, pod kierunkiem Pani dr hab. inż. Joanny Boguckiej, prof. PBŚ, a także Pani dr hab. inż. Hanny Jankowiak, prof. PBŚ jako promotora pomocniczego.

Podstawą formalną wykonania recenzji jest uchwała Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy z dnia 19 listopada 2021 roku.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Patrycji Reszki stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego dotyczącego oceny wpływu probiotyku EM Bokashi, zawierającego pożyteczne mikroorganizmy, na wyniki tuczu, morfologię i ekspresję genów w błonie śluzowej jelita czczego oraz jakość mięsa, elektroforetyczny rozdział białek i mikrostrukturę mięśnia *longissimus lumborum* świń żywionych różnymi dietami. Badania ostatnich lat wskazują, że właściwy mikrobiom jelitowy ma istotne znaczenia dla stanu zdrowotnego zarówno człowieka jak i zwierząt. Zaburzenie równowagi mikrobiomu zwierząt hodowlanych powoduje wiele problemów zdrowotnych objawiających się bólami, biegunką, zaparciami, spadkiem masy ciała, a nawet śmiercią. Zrównoważenie mikroflory jelitowej stanowi zatem skuteczną barierę przed kolonizacją patogenów, wpływa na produkcję substratów metabolicznych i pozytywnie stymuluje układ odpornościowy. Stąd też podjęcie badań nad efektywnymi organizmami (EM) w diecie świń uważam za uzasadnione tak pod względem poznawczym, jak i aplikacyjnym. Powszechność występowania schorzeń układu pokarmowego i zaburzenia jego funkcjonowania powiązane są z bardzo wysokimi kosztami leczenia i stratami ekonomicznymi w hodowli zwierząt. Tym samym poznanie efektów działania probiotyku EM Bokashi jako potencjalnego czynnika wywołującego korzystne zmiany w strukturze i funkcjonowaniu układu pokarmowego, mogą w znacznym stopniu poszerzyć wiedzę dotyczącą fizjologicznych mechanizmów regulujących funkcjonowanie jelita cienkiego, a to może przekładać się na dobrostan zwierząt, a tym samym wyniki produkcyjne oraz jakość pozyskiwanych surowców zwierzęcych

Rozprawę doktorską Pani mgr inż. Patrycji Reszki stanowi spójny tematycznie cykl publikacji opatrzony wspólnym tytułem „Wpływ pożytecznych mikroorganizmów EM na wyniki produkcyjne, śluzówkę jelita czczego oraz jakość mięsa świń”, opublikowanych w języku angielskim w czasopiśmie naukowych znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR). W skład cyklu wchodzi 2 prace oryginalne:

- pierwsza autorstwa: Patrycji Reszki, Aleksandry Dunisławskiej, Anny Sławińskiej, Marii Siwek, Wojciecha Kapelańskiego oraz promotora Joanny Boguckiej pt. „Influence of the effective microorganisms (EM) on performance, intestinal morphology, and gene expression in the jejunal

mucosa of pigs fed different diets. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 2020, 104, 5, 1444-1453. (IF 2020 = 2,130; 100 pkt. MNiE).

- druga autorstwa: Patrycji Reszki, Doroty Cygan-Szczegielniak, promotora pomocniczego Hanny Jankowiak, Aleksandry Cebulskiej, Beaty Mikołajczak oraz promotora Joanny Boguckiej pt. „Effects of effective microorganisms on meat quality, microstructure of the *longissimus lumborum* muscle, and electrophoretic protein separation in pigs fed on different diets. Animals 2020, 10, 10, 1-16. (IF 2020 = 2,752; 100 pkt. MEiN).

Przedstawione do oceny opracowanie liczy 49 stron, nie wliczając prac oryginalnych, stanowiących podstawę dysertacji. Podział opracowania na rozdziały jest typowy dla tego typu dysertacji i z formalnego punktu widzenia nie budzi zastrzeżeń. Obejmuje: Spis treści, Wstęp, Wykaz artykułów naukowych stanowiących cykl publikacji rozprawy doktorskiej, Uzasadnienie spójności tematycznej cyklu publikacji rozprawy obejmujący Hipotezę badawczą, Cel pracy, Materiał i metody badań, Wyniki, Dyskusję, Podsumowanie, Literaturę oraz Streszczenie w języku polskim i angielskim. Praca napisana jest poprawnym stylistycznie językiem w sposób zrozumiały i staranny. Tytuł rozprawy odzwierciedla zagadnienia poruszane w opracowaniu.

W drugiej części opracowania zostały zawarte załączniki takie jak: kopie artykułów naukowych stanowiących cykl publikacji rozprawy doktorskiej oraz Oświadczenie Doktorantki mgr inż. Patrycji Reszki i pozostałych Współautorów określające ich wkład w powstanie poszczególnych publikacji.

Na początku dysertacji umieszczono „Spis treści”, a dwustronicowy „Wstęp” wprowadza czytelnika w podejmowaną tematykę badawczą. Takie przedstawienie zagadnień w tym rozdziale uważam za w pełni przemyślane, dojrzałe i dające możliwość właściwego wprowadzenia i zapoznania z podjętą w pracy tematyką badawczą. Obszernie cytowane i dobrze dobrane piśmiennictwo świadczy o bardzo dobrej znajomości zagadnień, których dotyczy oceniana dysertacja doktorska. Doktorantka w dużej mierze cytuje najnowsze, najbardziej aktualne piśmiennictwo z tego zakresu.

Na kolejnej stronie opracowania został zawarty wykaz publikacji naukowych wchodzących w skład pracy doktorskiej wraz z opisem punktowym. W tym miejscu pragnę tylko zwrócić uwagę, że od momentu złożenia przez Doktorantkę dysertacji współczynniki wpływu (IF) przedstawionych przez nią oryginalnych prac za 2020 rok wzrosły odpowiednio dla czasopisma Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition do poziomu 2,130, a dla czasopisma Animals do poziomu 2,752.

Stąd też **sumaryczny IF powyższych prac zgodnie z rokiem wydania wynosi 4,882, a łączna liczba punktów według listy MEiN = 200.**

W kolejnym rozdziale Doktorantka przedstawiła „Uzasadnienie spójności tematycznej cyklu publikacji rozprawy doktorskiej”, a także hipotezę i cel badań. Hipoteza badawcza pracy sformułowana jest rzeczowo i przedstawia w zwartej formie założenia, które Doktorantka zamierzała zweryfikować na podstawie przeprowadzonych analiz, testów laboratoryjnych i badań na zwierzętach. W celu zweryfikowania hipotezy badawczej Doktorantka wyodrębniła dwa podstawowe kierunki badań realizujące cele szczegółowe dysertacji, a mianowicie:

- ocenę potencjału trawiennego jelita wskutek zmian zachodzących w strukturze jelita czczego, a także ekspresji genów związanych z metabolizmem i funkcjonowaniem przewodu pokarmowego pod wpływem suplementacji probiotycznej

oraz

- analizę zmian w udziale poszczególnych typów włókien mięśniowych, ich średnicy i gęstości, udziale tłuszczu śródmięśniowego, występowaniu zmian patologicznych oraz podstawowych parametrów jakości mięsa pod wpływem suplementacji probiotycznej.

Do osiągnięcia zamierzonych celów Doktorantka przeprowadziła badania na 150 czterorasowych tucznikach, które podzielono na 3 główne grupy w zależności od zastosowanego

systemu żywienia. W pierwszej grupie zwierzęta żywiono standardowo z zastosowaniem poekstrakcyjnej śrutu sojowej (100%), natomiast w I wariantcie żywieniowym i II wariantcie żywieniowym soję zastąpiono odpowiednio grochem i łubinem. Następnie, w celu oceny wpływu suplementacji EM Bokashi, zwierzęta podzielono na podgrupy: kontrolne – żywione bez dodatku probiotyku oraz doświadczalne – żywione z dodatkiem probiotyku. Dodatkowo, w manuskryptach oryginalnych prac naukowych Doktorantka zamieściła informację o tym, że wykorzystanie zwierząt w badaniach zostało zatwierdzone przez lokalną komisję etyczną ds. doświadczeń na zwierzętach w Bydgoszczy. Jedyną moją sugestią w tym zakresie to dołączenie kopii decyzji LKE w formie załącznika do maszynopisu.

Rozdział „Materiał i metody”, Doktorantka przedstawiła na 9. stronach maszynopisu. Zredagowano go z dużą dbałością o szczegóły przeprowadzonych eksperymentów. W sposób przejrzysty przedstawiono metodologię analizy histomorfometrycznej jelita czczego oraz analizy ekspresji genów błony śluzowej jelita czczego związanych z układem immunologicznym, metabolizmem kwasów tłuszczowych, transportem glukozy, jak również genów kodujących glikoproteinę (*MUC6*), a także genów kodujących białka związane z połączeniami szczelinowymi. W próbkach mięśnia *longissimus lumborum* określono natomiast, parametry fizykochemiczne mięsa, a także przeprowadzono analizę elektroforetyczną białek oraz ocenę mikrostrukturalną mięśnia *longissimus lumborum* obejmującą ocenę parametrów włókien mięśniowych, w tym również zmian patologicznych, oraz oszacowano udział procentowy tłuszczu śródmięśniowego. Doświadczenia przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi zasadami prowadzenia badań fizjologiczno-żywieniowych na zwierzętach a uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej.

Z obowiązku recenzenta nie mogę nie zwrócić uwagi na pewne elementy metodyki, których w moim odczuciu brakowało w tym rozdziale. Mam tutaj kilka pytań:

- Z uwagi na fakt, że na parametry produkcyjne świń, a także mikrostrukturę mięśni, w tym przede wszystkim wielkość włókien mięśniowych, jak i zawartość tłuszczu śródmięśniowego wpływa wiele czynników, zarówno genetycznych jak i środowiskowych, bardzo istotne jest przedstawienie wszystkich, które mogą o nich decydować, a więc m.in. także informacji o płci zwierząt. W tabeli 1 na stronie 12 oraz w tabeli 2 publikacji **P2** Doktorantka zamieściła informację, że we wszystkich grupach analizowała zarówno loszki jak i i tu pytanie knurki, czy wieprzki? Z zastosowanego zapisu symboli płci wynika, że knurki.

- Kolejna uwaga z tym związana, dlaczego w analizie statystycznej nie uwzględniono płci jako efektu głównego i nie przeanalizowano ewentualnych interakcji między efektami głównymi. Co prawda w publikacji **P2** jest informacja, że nie odnotowano różnic płciowych, natomiast w publikacji **P1** nie ma o tym żadnej wzmianki.

- Pewnego doprecyzowania w tym rozdziale wymaga, choćby w sposób skrótowy, przedstawienie ocenianych przez Doktorantkę wskaźników produkcyjnych świń. Takie informacje można dopiero znaleźć w rozdziale „Wyniki”. Szczególnie istotne jest także precyzyjne określenie miejsca pobrania próbek jelita czczego oraz mięśni do konkretnych analiz (np. w przypadku mięśni na wysokości jakiego kręgu lędźwiowego pobierano próbki do oznaczeń). Jest to oczywiście uchybienie marginalne, ale jednak warto podawać takie dane choćby z uwagi na powtarzalność badań.

Powyższe uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej ocenianej części dysertacji. Pragnę natomiast w tym miejscu szczególnie podkreślić szeroki zakres prowadzonych oznaczeń i pomiarów oraz analiz co zasługuje na duże uznanie.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione i udokumentowane bardzo rzetelnie w formie 5 tabel, 2 rycin i 2 fotografii oraz w formie zwartej komentarza słownego na 10. stronach maszynopisu w rozdziale „Wyniki”. Zawarte tu dane są w pełni zgodne z założoną hipotezą badawczą, materiałem i metodami przyjętymi w niniejszej dysertacji doktorskiej. Doktorantka dokonała ich prawidłowej i

wyczerpującej oceny. Przedstawione wyniki są ciekawe i jednocześnie inspirują do dalszych badań. Mają także swoją wartość poznawczą i wartość praktyczną. Na pochwałę zasługuje forma prezentowania wyników. Tabele i ryciny są przejrzyste i czytelne, zredagowane z dużą starannością.

Do tej części dysertacji mam jedną drobną uwagę:

- Zgodnie z informacją zawartą w rozdziale „Analiza statystyczna” Doktorantka prezentując dane liczbowe w tabelach 7, 8 i 9 stosuje zapis – „średnia arytmetyczna \pm odchylenie standardowe (SD)”. Zapis ten jest bardzo popularny w pracach naukowych. Jednak należy pamiętać, że średnia arytmetyczna jest miarą położenia, zaś odchylenie standardowe jest miarą zmienności. Mierzają one zupełnie inne cechy próby i nie należy ich łączyć znakiem „ \pm ”. Stąd też warto przedstawiając takie dane wprowadzić osobne kolumny dla średniej a osobne dla SD.

Kolejny rozdział dysertacji a mianowicie „Dyskusja”, liczący 7 stron maszynopisu, oparty jest na rozległej znajomości podjętej tematyki badawczej. Logiczność prowadzonych wywodów nie budzi zastrzeżeń. Dyskusja jest merytoryczna, konkretna, logicznie przeprowadzona i dobrze udokumentowana cytowanymi źródłami. O aktualności zagadnień poruszanych w dyskusji świadczy również fakt, że większość cytowanych publikacji ukazało się po 2010 roku.

Ważnym rozdziałem wieńczącym pracę jest rozdział „Podsumowanie”, w którym Doktorantka zawarła 6. wniosków stanowiących podsumowaniem kolejnych etapów badań. Ich treść jest uzasadniona wynikami badań i w pełni odpowiada na postawione w celu dysertacji pytania.

Zagadnienia poruszane w rozprawie doktorskiej zostały poparte licznym i właściwie dobranym piśmiennictwem świadczącym o dobrym merytorycznym przygotowaniu Doktoranta. Rozdział „Literatura” liczy 7 stron i zawiera 119 pozycji literatury, z czego przeważająca większość to prace i artykuły aktualne z ostatnich 10 lat.

Umieszczone w dalszej kolejności streszczenie w języku polskim i angielskim w dobry sposób oddaje cel pracy, najważniejsze fakty metodologiczne i co najważniejsze osiągnięte przez Doktorantkę efekty badań.

Analizując przedstawiony przez Doktorantkę cykl publikacji uważam, że odrębna ocena recenzencka jest zbędna. Każda z prezentowanych publikacji była szczegółowo recenzowana pod kątem wymagań stawianych pracom oryginalnym oraz była poddana niezależnej ocenie merytorycznej przez recenzentów będących najczęściej autorytetami w danej dziedzinie badań i w systemie, który zapewnia bezstronność. Dlatego w przypadku recenzji dysertacji w formie publikacji, rolą recenzenta jest ocena wkładu indywidualnego kandydatki do stopnia naukowego w powstanie pracy zbiorowej. Publikacje powstały w wyniku logicznie zaplanowanych badań eksperymentalnych. Co warto podkreślić w obydwu publikacjach stanowiących podstawę dysertacji Pani mgr inż. Patrycja Reszka jest pierwszym autorem, jej udział w ich powstaniu wynosi odpowiednio 55% i 60%. Doktorantka współuczestniczyła w opracowaniu koncepcji publikacji, analizie laboratoryjnej, analizie statystycznej wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Dodatkowo w drugiej pracy Doktorantka pełniła także funkcję autora korespondencyjnego, a załączone oświadczenia Współautorów nie budzą wątpliwości co do kluczowej roli Doktorantki w publikacjach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Należy zaznaczyć, że podjęte badania mają nie tylko aspekt poznawczy, ale i aplikacyjny.

W podsumowaniu pragnę podkreślić, że osiągnięcie badawcze Doktorantki oceniam wysoko, zarówno ze względu na bardzo szeroki i nowatorski zakres badań, zastosowane metody, jak i znaczącą wartość wyników pracy dla nauki, ale także potencjalnie dla praktyki. Moim zdaniem badania, które przeprowadziła Pani mgr inż. Patrycja Reszka są bardzo inspirujące i znacząco poszerzają wiedzę z zakresu żywienia zwierząt. Doktorantka dowiodła też, że posiada umiejętności planowania i prowadzenia badań naukowych, dobierania właściwych metod badawczych oraz dokonania

prawidłowej analizy wyników i co warte szczególnego podkreślenia publikowania ich w renomowanych czasopismach naukowych.

Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę celowość i aktualność podjętych badań, zakres ich realizacji, formę prezentacji oraz interpretację uzyskanych wyników stwierdzam, że wnoszą one nowe wartości poznawcze i mogą mieć ważny aspekt praktyczny. Przedstawione w niniejszej recenzji uwagi i spostrzeżenia mają charakter pomocniczy, nie umniejszają wartości merytorycznej pracy i nie mają większego wpływu na ostateczną jej ocenę. Wobec tego z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Patrycji Reszki spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie z dnia 14 marca 2013 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 ze zm.) w zw. z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. oraz przepisów wprowadzających Ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 ze zm. w Dz. U. z 22 marca 2019 r. poz. 534). W związku z tym przedkładam Radzie Dyscypliny Zootechniki i rybactwo Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani mgr inż. Patrycji Reszki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, z uwagi na wskazane w tej recenzji walory pracy, wnoszę do Rady Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy o wyróżnienie rozprawy doktorskiej autorstwa Pani mgr inż. Patrycji Reszki pt. „Wpływ pożytecznych mikroorganizmów EM na wyniki produkcyjne, śluzówkę jelita czczego oraz jakość mięsa świń”.

Santa Hajtyniak