

dr hab. Magdalena Krauze, profesor uczelni

Lublin, 15 stycznia 2024 r.

Katedra Biochemii i Toksykologii

Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

## RECENZJA

pracy doktorskiej **mgr inż. Marcina Gumowskiego** pt. **„Opracowanie i zastosowanie preparatu opartego o naturalne składniki roślinne w profilaktyce odchowu brojlera kurzego”**, wykonanej pod kierunkiem promotora dr hab. inż. Mariusza Korczyńskiego, profesora uczelni i opiekuna pomocniczego dr Henryka Różańskiego, w Katedrze Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Recenzja przedstawionej do oceny dysertacji, będącej monografią naukową, została wykonana na podstawie uchwały Rady Naukowej Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dn. 24 października 2023 r., w myśl zapisów art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2023 r. poz. 742 z późn. zm.).

Oceniana praca zawiera podstawowe elementy rozprawy doktorskiej, ma charakter naukowo-badawczy, napisana jest poprawnym, naukowym językiem i formalnie odpowiada wymogom zawartym w w/w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r.

### **Ocena merytoryczna**

Stosowanie fitobiotyków w odchowie drobiu może poprawiać zdrowotność, a co za tym idzie, także produktywność zwierząt oraz jakość produktów pochodzenia zwierzęcego. Obecność w fitobiotykach licznych substancji biologicznie czynnych o specyficznych właściwościach prozdrowotnych pozwala na uzyskanie wspomnianego efektu drogą poprawy statusu metabolicznego oraz antyoksydacyjnego, stymulacji odporności ptaków, czy poprawy składu mikrobiomu i wskaźników morfologicznych jelit.



Celowość opracowywania nowych formuł dodatków fitobiotycznych i ocena ich efektywności jako potencjalnych stymulatorów zdrowotności ptaków i poprawiających efektywność ich odchowu, będących założeniem ocenianej dysertacji, uważam za w pełni uzasadnioną, zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia.

W rozdziale **Wstęp** Doktorant uzasadnia podjęcie przeprowadzonych badań. Opisuje specyfikę chowu kurcząt brojlerów, charakteryzuje stresory środowiskowe na jakie narażone są ptaki podczas intensywnego chowu, pisze o presji mikrobiologicznej związanej z występowaniem kokcydiozy i pogarszaniu się wyników produkcyjnych będących skutkiem nekrotycznego zapalenia jelit. Sporo uwagi poświęca również budowie przewodu pokarmowego ptaków i jego powiązaniu z odpornością organizmu, a także profilaktyce kokcydiozy i związanych z nią problemów w aspekcie lekooporności pierwotniaków z rodzaju *Eimeria*. Swoje rozważania naukowe Autor skupia również na temacie nadwrażliwości ze strony układu pokarmowego konsumentów spożywających produkty pochodzenia drobiarskiego. Opisuje również bardzo ogólnie zasadność stosowania i oddziaływania fitobiotyków.

W tej części brakuje mi jednak krótkiej charakterystyki roślin i substancji bioaktywnych zastosowanych w komponowaniu Prototypu 1 i Prototypu 2. Dotyczy to przede wszystkim potencjalnego oddziaływania konkretnych substancji bioaktywnych w kontekście ocenianych cech (np. *Hedera helix*, czy salicylan metylu, które nie są zaliczane do najczęściej wykorzystywanych i powszechnie stosowanych dodatków/składników do pasz dla zwierząt). Sadzę, iż takie informacje są istotne z uwagi na fakt, iż wskazywałyby na uzasadnienie zastosowania tych składników w testowanych prototypach preparatów fitobiotycznych. Ponadto, we wstępie podrozdz. 2.2 pojawia się pojęcie „stresora oksydacyjnego”. Podejrzewam, iż Doktorantowi chodziło o bodziec, jakim jest konkretna substancja, w tym przypadku chyba kwas moczowy (nie jest to wyraźnie zaakcentowane), który w ilościach fizjologicznych w ustroju pełni rolę przeciwutleniacza, zaś jego nadmiar prowadzi do nadmiernej aktywacji stresu oksydacyjnego. Nie są to jednak pojęcia tożsame. Pod terminem stres oksydacyjny kryje się bowiem stan, w którym dochodzi do zaburzenia równowagi między ilością utleniaczy a antyoksydantów. Problem pojawia się wówczas, gdy utleniaczy jest więcej niż antyoksydantów. W sytuacji, gdy liczba antyoksydantów jest adekwatna do ilości generowanych wolnorodnikowych form tlenu w ustroju, to właśnie antyoksydanty oddają elektrony wolnym rodnikom, przyczyniając się do ich neutralizacji.

**Cel badań i hipotezy badawcze** zostały sformułowane poprawnie, choć moim zdaniem jest w nich zbyt dużo uogólnień (...korzystnym wpływem na status immunologiczny..., ...nie

będzie miał negatywnego wpływu...). Jedyne w przypadku hipotezy 1 doprecyzowano na czym ma polegać korzystne działanie. Nie jestem również do końca pewna czy określenie "status immunologiczny migdałka jelitowego" jest właściwe. Może bardziej adekwatne byłoby sformułowanie ...odpowiedź immunologiczna..., gdyż słowo status tyczy się odpowiedzi układu odpornościowego na poziomie całego ustroju. Właściwa ocena aktualnego statusu immunologicznego jest możliwa natomiast na podstawie oznaczania np. poziomu odpowiednich immunoglobulin w surowicy krwi. Doktorant sam zresztą pisze (na str. 86), że "Zwiększona liczba limfocytów stanowi jedynie wierzchołek góry lodowej znacznie szerszego zakresu korzystnych efektów..." jakie wynikają ze stosowania metabolitów roślinnych podczas modulowania układu immunologicznego.

Pomimo tych drobnych uwag szeroki zakres i kompleksowość przeprowadzonych badań oraz modele badań i zastosowane metody badawcze w pełni pozwalają na wiarygodną weryfikację hipotez.

W rozdziale **Materiał i metody** Doktorant przedstawia formę użytkową preparatów fitobiotycznych charakteryzując koformulanty i technologię ich pozyskania. O ile informacja odnośnie Prototypu 2 oraz preparatu komercyjnego jest precyzyjna, czyli, że "...zostały opracowane na bazie śladników roślinnych, które zostały zmikronizowane i naniesione na lipidowe podłoże", to zdecydowanie brakuje kilku istotnych informacji na temat składników i technologii otrzymywania Prototypu 1.

Z pozycji funkcji recenzenta jaką pełnię oceniając przedstawioną mi do oceny dysertację bardzo proszę o ustosunkowanie się Doktoranta do poniższych zagadnień:


1. Proszę bardziej przybliżyć charakterystykę zastosowanej emulsji micelarnej, gdyż jest to ciekawe zagadnienie. Micele to cząsteczki składające się z cząstek lipofilowych i hydrofilowych, mogących przyłączać/pochłaniać do swojego wnętrza adekwatne pod względem chemicznym cząsteczki. Zagadnienie 1 : Co stanowi wspomniane w dysertacji (str. 29) "podłoże o jednorodnej strukturze fizykochemicznej" w Prototypie 1? Czy określenie w tekście "kompleksowe fitoncydy" jest właściwe? Czy nie powinno być skompleksowane, kompleksowane? Z jakimi związkami fitoncydy tworzą wspomniane kompleksy? Z jakimi metalami, czyli związkami kompleksującymi, zastosowane substancje utworzyły chelaty? Sądzę również, iż zdanie "W wyniku fotodynamizacji i wiązania aktywnych form tlenu fitoncydy **otrzymują postać** estrów, oksydów terpenoidowych, epitenków i ozonianów" powinno brzmieć: "W wyniku fotodynamizacji oraz wiązania aktywnych form tlenu fitoncydy **przyjmują postać** estrów, oksydów terpenoidowych, epitenków i ozonianów".



2. Sprawa druga, skąd pochodził salicylan metylu? - nie ma o tym wzmianki. Pytanie dotyczy także pozostałych komponentów prototypu 1. Czy były to gotowe surowce, czy pozyskiwano je na potrzeby komponowania prototypów? Jaką miały formę użytkową? Być może takie informacje (i kolejne istotne) pojawią się w prezentacji w trakcie publicznej obrony Doktoranta.
3. Zagadnienie kolejne : Grupa N otrzymywała preparat komercyjny, czyli posiadający podejrzewam pełną informację handlową na temat składu. Z kolei grupy A, B i C otrzymywały preparaty testowane. W jakich proporcjach/ilościach zastosowano poszczególne komponenty w mieszaniu fitobiotycznej? Czym się kierowano dobierając takie a nie inne proporcje? Doktorant w Materiałach i metodach powołuje się na informację, iż *"Pod wpływem procesów ozonowania powstały nadtlenki, tlenki, ozonki, alkaloidy terpenowe o silnych właściwościach bakteriobójczych"*. Jakie wyniki badań na to wskazują?, gdyż nie zawarto takich informacji we wstępie do rozprawy doktorskiej oraz w opisie wyników badań. Czy testowano w jakikolwiek sposób w badaniach *"in vitro"* właściwości bakteriobójcze?
4. Proszę o przybliżenie tematu, dlaczego pojawiła się koncepcja na wdrożenie składnika jakim jest salicylam metylu do prototypu 1? Czym się kierowano? Czego oczekiwano po tym komponencie ? Brak na ten temat informacji we wstępie i w opisie wyników. Ponadto, czy wykonano jakiegokolwiek badania dotyczące potencjalnej toksyczności Prototypu 1? Może to być bowiem związane z dawkowaniem preparatu. Salicylan metylu jest substancją mogącą wchodzić w interakcje z innymi substancjami czynnymi, może dawać skutki uboczne i działać ogólnoustrojowo. Dodatkowo, aplikacja ciągła tego związku przyspiesza jego wchłanianie w ustroju. Szkoda, że nie zawarto takich informacji we wstępie do rozprawy doktorskiej lub przynajmniej w opisie wyników badań. Owszem, na str. 47 Doktorat pisze, iż *"Potwierdzenie uzyskanych wyników można znaleźć w dostępnej literaturze opisującej poszczególne skłdniki prototypu 1 (...) i ich wpływ na wyniki produkcyjne kurcząt brojlerów. Spodziewać się można synergistycznego działania tych związków, które powinno spotęgować efekt działania wieloskładnikowego preparatu fitoncydowego"*. Są to jednak tylko przypuszczenia, że korzystniej zadziała mieszanina składników Prototypu 1, a nie stwierdzenia, co do których na tym etapie badań byłabym ostrożna.
5. Na jakiej podstawie ustalono dawki prototypów? Dlaczego w przypadku Prototypu 1 zastosowano dwa stężenia, a w przypadku Prototypu 2 tylko jedno stężenie testowanego preparatu fitobiotycznego?
6. Jaką formę miały zastosowane preparaty fitobiotyczne?



7. Jak domieszano do pasz preparaty będące prototypami?
8. Rozdział **Wyniki i dyskusja**. W tekście pojawia się dość często określenie typu : "W przeprowadzonych badaniach...". Niestety, często czytającemu nasuwa się pytanie : W czyich badaniach, Doktoranta, czy też innych badaczy? Doktorant nie precyzuje bowiem, np. na początku zdania, na czyje wyniki badań w danym momencie się powołuje. Szkoda, że z tekstu nie można jasno wywnioskować kto jest autorem wspomnianych badań. Przedstawiony opis sugeruje, aby domyślać się, że chodzi o wcześniejsze badania z udziałem Doktoranta. Sądzę, iż zdecydowanie lepiej od razu jest nawiązać, iż dany autor, w swoich badaniach, na konkretnym gatunku zwierząt (bądź materiale biologicznym), w przypadku oceny takiej a nie innej cechy, uzyskał następujący wynik.
9. W polskiej nomenklaturze chemicznej figuruje związek o nazwie dialdehyd malonowy, w skrócie MDA, a nie jak błędnie podaje Doktorant malonaldehyd (str. 41). Zacytowana nazwa jest najprawdopodobniej bezpośrednim tłumaczeniem wersji anglojęzycznej związku, czyli malonaldehyde.
10. Tytuły tabel. Przede wszystkim jest pomyłona numeracja tabel. Do tabeli nr 15 numeracja w tytule tabeli zgadza się z tą, jaka została zacytowana w tekście. Problem pojawia się w tabeli 16 i 17, które Doktorant w tekście rękopisu cytuje odpowiednio jako nr 3 i 4. Zwracam również uwagę na treść tytułów tabel, np. tabeli 12, 13, 14, 16,17, które moim zdaniem wymagają jeszcze dopracowania, przy ewentualnym prezentowaniu badań w przyszłości.
11. W profesjonalny i precyzyjny sposób zostały opisane wyniki analizy histologicznej i histometrycznej jelita cienkiego. Niestety są przedstawione w bardzo „suchy”, odtwórczy sposób. Szkoda, że w tekście opisu nie pojawiły się odnośniki do zaprezentowanych na koniec rozdziału tabel i bardzo czytelnie wykonanych fotografii. Nie została również wpleciona w tekst próba interpretacji uzyskanych wyników i dyskusja z wynikami innych autorów z tej tematyki. Z uzyskanych wyników wynika, że Prototyp 1 najlepiej wpłynął na przebudowę tkanki jelita, na zwiększenie powierzchni chłonnej oraz na długość życia kosmków jelitowych. Szkoda, że Doktorant nie pokusił się o dociekanie który ze składników/które składniki Prototypu 1 mogły w największym stopniu wpłynąć na uzyskanie takich efektów i dlaczego. Jaki mógłby być mechanizm takiego oddziaływania? Konkludując, uważam, iż taka forma prezentacji wyników bardzo wzbogaciłaby pracę, ale jest to tylko moje odczucie, które nie umniejsza na pewno jakości uzyskanych wyników.



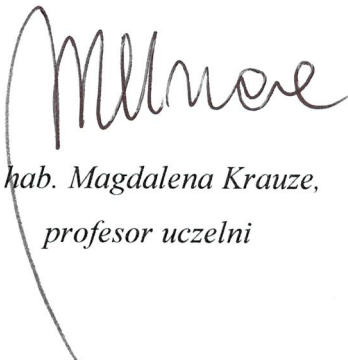
12. Str. 85 - tytuł podrozdziału 5.5. Analiza immunohistomatemyczna. Czy to pojęcie jest właściwe? Podejrzewam, iż zaprezentowane wyniki dotyczą analizy immunohistochemicznej.
13. W dysertacji często brakuje zastosowania kursywy do nazw łacińskich (np. str. 18, 24, 27, 32 itd.).
14. Rozdział **Wnioski**: Sugerowałabym ograniczyć liczbę wniosków i sformułować je jako konkrety, zaś część informacji z tego rozdziału ująć jako podsumowanie. Moim zdaniem należy usunąć: drugie zdanie z wniosku 1, a pierwsze zdanie przeformułować. Może trafniej byłoby napisać, iż Prototyp 2 zdecydowanie silniej poprawił odpowiedź immunologiczną (sprecyzować w jaki sposób; na jaką cechę wpłynął), aniżeli Prototyp 1. Wniosek 3 mógłby przybrać formę: *Składniki aktywne testowanych prototypów fitobiotycznych zdecydowanie słabiej stymulowały odnowę i wzrost kosmków, aniżeli preparat komercyjny*. Wniosek 4, 6 i 7 uważam, iż powinien zostać usunięty i te informacje powinno się podać albo w opisie wyników badań lub w podsumowaniu. We wniosku 5 zmieniałabym szyk zdania, zaczynając od stwierdzenia, że „*Prototyp 1 zastosowany w dawce 0,02% do mieszanki paszowej...*”. Następnie, wniosek 8 – może trafniej byłoby napisać w omówieniu, iż na właściwości sensoryczne mięsa korzystniej wpłynął preparat komercyjny, aniżeli prototypy, gdyż to nie on był głównym tematem badań. We wniosku 9 może lepszym określeniem byłoby: „...*,wpłynął na osiągnięcie większej masy ciała...*”, aniżeli „*powodowała większą masę ciała*”. Wniosek 10 i 11 moim zdaniem bardziej pasuje do podsumowania, które można umieścić w tej części pracy. Nie są to wnioski z badań i nie stanowią odpowiedzi na postawioną hipotezę badawczą. Są to jedynie zaproponowane przeze mnie sugestie.
15. W rozdziale **Piśmiennictwo** nie zacytowano żadnej z publikacji, na które Doktorant powołuje się w rozdziale Materiał i metody (np. Batsoglou i in., 1994; McDonald i Hultin 1987; Szymński 1996; itd). Uważam, iż podanie takich informacji jest istotne z uwagi na zasadność dostosowania rodzaju metody, zwłaszcza jej warunków, do ocenianego analitu w konkretnym materiale badawczym.
16. W treści dysertacji odnalazłam również kilka nie ujętych w rozdziale Piśmiennictwo pozycji, błędy w nazwiskach i brak konsekwencji w cytowaniu w tekście. Jednym razem jest to nazwisko pierwszego autora oraz adnotacja i in., innym razem są przypisane tylko 2 lub 3 nazwiska z całej grupy autorów lub też pojawia się angielska adnotacja et al. To takie uwagi edytorskie, na które należałoby zwrócić baczniejszą uwagę w przyszłości.



## **Podsumowanie**

Podsumowując, wysoko ocniam dysertację doktorską mgr inż. Marcina Gumowskiego. Kompleksowy i szeroki zakres badań przedstawionych w rozprawie wymagał bardzo dobrej znajomości podjętej problematyki oraz dużego nakładu pracy. Doktorant wywiązał się z tego w stopniu bardzo dobrym. Na uwagę zasługuje aspekt aplikacyjny uzyskanych wyników badań, który pozwoli na wdrożenie efektów nauki do praktyki. Uzyskane rezultaty pozwolą bowiem na promocję produkcji mięsa z kurcząt brojlerów z chowu bez antybiotyków.

**Reasumując stwierdzam, że oceniana praca w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim określonym w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. Z 2023, poz. 742 ze zm., art. 187) i może być podstawą do nadania stopnia naukowego doktora nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo. Dlatego też, z pełnym przekonaniem przedstawiam Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie mgr inż. Marcina Gumowskiego do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.**



*dr hab. Magdalena Krauze,  
profesor uczelni*