

dr hab. Magdalena Krauze

Lublin, 8 września 2017 r.

Katedra Biochemii i Toksykologii

Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

## RECENZJA

**pracy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Kubińskiej pt. „Reakcja indyków na zróżnicowaną zawartość metioniny w paszy” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Jankowskiego i dr n. wet. Bartłomieja Tykałowskiego, w Katedrze Drobiarstwa, Wydziału Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie.**

Ocenianą rozprawę stanowią trzy tematycznie spójne oryginalne prace twórcze obejmujące wyniki badań przeprowadzonych w ramach Grantu 2013/11/B/NZ9/02496 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki:

1. **Kubińska M.**, Tykałowski B., Jankowski J., Koncicki A. 2014. Immunological and biochemical indicators in turkeys fed diets with a different Methionine content. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 17: 687 – 695; (IF= 0,604; pkt.=20)
2. **Kubińska M.**, Tykałowski B., Koncicki A., Jankowski J. 2015. Biochemical and immunological responses of young turkeys to vaccination against *Ornithobacterium rhinotraheale* and different levels of dietary methionine. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 18: 807 – 816; (IF= 0,719; pkt.=20)
3. Jankowski J., **Kubińska M.**, Juśkiewicz J., Czech A., Zduńczyk Z. 2016. The effect of dietary methionine levels on fattening performance and selected blood and tissue redox parameters. *Archives of Animal Nutrition*, 70: 127 –140; (IF= 1,319; pkt.=30)

W dwóch publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem, zaś w trzeciej – drugim. Wkład pracy Dyplomantki został określony odpowiednio na: 60, 60 i 35%, a także potwierdzony przez wszystkich współautorów stosownym oświadczeniem. Sumaryczny IF czasopism, w których opublikowano prace wchodzące w skład dysertacji wynosi 2,64, zaś liczba punktów według MNiSzW to 70.

Dopełnieniem podmiotowych publikacji jest polskojęzyczny tekst, stanowiący skrótowy opis badań przedstawionych w w/w opracowaniach. W podsumowaniu tym ujęto: wstęp, hipotezę

badawczą, cel i zakres pracy, opis przeprowadzonych badań, omówienie najważniejszych wyników przeprowadzonych badań, podsumowanie i wnioski, wykaz zastosowanych skrótów, wykaz piśmiennictwa oraz streszczenie. Ponadto zamieszczono oświadczenia Doktorantki i wszystkich współautorów, dotyczące procentowego udziału włożonej pracy w realizację publikacji.

Mając powyższe na uwadze stwierdzam, że formalna strona przedstawionej rozprawy nie budzi żadnych zastrzeżeń.

### **Ocena merytoryczna**

W żywieniu drobiu metionina uważana jest za aminokwas limitujący wykorzystanie białka z paszy, ale w celu utrzymania zadowalającej efektywności produkcji oraz zmniejszenia obciążenia środowiska związkami azotowymi wydalanymi w odchodach, ważnym aspektem jest dostosowanie poziomu tego aminokwasu do gatunku i grupy wiekowej. Metionina pełni szereg ważnych funkcji metabolicznych w organizmie, jak również uczestniczy w procesach detoksyfikacji organizmu. Będąc aminokwasem niezbędnym decyduje o wykorzystaniu innych składników diety. Uczestniczy w syntezie SAM czyli S-adenozylometioniny, która pełni rolę kosubstratu w reakcjach metylacji i jako donor grupy metylowej ma kluczowe znaczenie dla utrzymania innych reakcji metabolicznych warunkujących homeostazę, wspomaga ochronę DNA i metylowanie białek. Metionina jest także prekursorem syntezy szeregu innych związków np. aminokwasów siarkowych tj. cysteina, niezbędnej do syntezy glutationu.

Tak różnokierunkowy zakres funkcji biologicznych pełnionych przez metioninę w organizmie sprawia, że zaproponowana przez Dyplomantkę tematyka doskonale wpisuje się w nurt aktualnych badań i zapotrzebowanie drobiarskiej praktyki terenowej. W przedstawionej rozprawie podjęto i rozwiązano szereg interesujących zagadnień na temat wpływu różnych dawek metioniny dla szybko rosnących indyków, zarówno we wcześniejszym, jak i późniejszym okresie ich odchovu.

**Wstęp.** Merytorycznym uzasadnieniem podjętych przez Autorkę badań jest zwięzłe i interesująco zaprezentowany wstęp, wyczerpująco przedstawiający stan wiedzy na temat funkcji biologicznych samej metioniny, jak również niebezpieczeństw jakie niesie za sobą intensywna produkcja drobiarska. Zarówno ten rozdział, jak i odpowiadające mu fragmenty w prezentowanych jako załączniki publikacjach, dowodzą dużej znajomości poruszanej przez Doktorantkę problematyki.

**Hipoteza badawcza, cel i zakres pracy.** Na podstawie zdobytej wiedzy Autorka jasno i precyzyjnie sformułowała hipotezę badawczą oraz cel pracy. Założyła, że metionina jako funkcjonalny składnik diety poprawia wyniki odchovu i dobrostan indyków. W celu weryfikacji hipotezy postanowiono w trakcie dwóch doświadczeń sprawdzić, czy poprzez zwiększenie zawartości metioniny w diecie szybko rosnących indyków można, obok możliwego wpływu na tempo wzrostu ptaków i wartość rzeźną, poprawić sprawność ich systemu immunologicznego oraz

antyoksydacyjnego. Dlatego też, w eksperymencie nr 1 weryfikowano założenie, że poprzez zwiększenie zawartości tego aminokwasu w diecie można poprawić wyniki odchowu, wartość wskaźników biochemicznych i sprawność systemu immunologicznego ich organizmu do 56. dnia ich życia. Z kolei w doświadczeniu nr 2 sprawdzano, czy poprzez zwiększenie zawartości metioniny w diecie można poprawić wskaźniki produkcyjne i/lub status antyoksydacyjny i immunologiczny indyków starszych, czyli między 56. a 112. dniem ich odchowu.

**Opis przeprowadzonych badań.** W części metodycznej syntetycznie przedstawiono materiał badawczy i opisano układ doświadczalny, a także ogólnie zaprezentowano zakres prowadzonych analiz laboratoryjnych. Bardziej szczegółowy opis materiału doświadczalnego i procedur badawczych przedstawiono w załączonych publikacjach.

Następnie w rozdziale „**Omówienie najważniejszych wyników przeprowadzonych badań**” w formie pięciu podrozdziałów przybliżono główne rezultaty badań. Szczegółowy opis uzyskanych wyników zaprezentowano w załączonych do rozprawy publikacjach.

**Podsumowanie i wnioski.** W dysertacji sformułowano w sumie 5 uogólnień i wniosków, które wynikają z przeprowadzonych badań, zawartych w publikacjach. Bardziej szczegółowe wnioski i przemyślenia autorów znajdują się w każdej z trzech prac stanowiących rozprawę doktorską.

Rozdział **Wykaz zastosowanych skrótów** prezentuje skróty oraz polskie i/lub angielskie rozwinięte nazwy, zawarte w polskojęzycznym tekście zawartym w dysertacji.

**Wykaz piśmiennictwa** obejmuje 44 anglojęzyczne pozycje, doskonale dobranej, nienumerowanej bibliografii. Następnie znajduje się polskie i angielskie **streszczenie**. Opracowanie kończą kopie 3 publikacji naukowych stanowiących rozprawę doktorską wraz ze stosownymi oświadczeniami autorów.

#### **Uwagi**

Niezależnie od faktu, iż rozprawa przygotowana jest bardzo rzeczowo i starannie, całe opracowanie ujawnia pewne, nieliczne niedociągnięcia, na które z punktu widzenia recenzenta muszę zwrócić uwagę.

- 1) W rozdziale **Wstęp** na str. 8 widnieje zdanie: *Według Ruth i Field (2013), na funkcje GALT znacząco wpływa poziom niektórych aminokwasów w diecie: glutaminy, która redukuje stany zapalne i wpływa na poziom IgA w jelitach; argininy, która obniża poziom cytokin zapalnych w jelitach; treoniny niezbędnej do syntezy mucyny oraz metioniny i cystyny, które zmniejszają stres oksydacyjny jelit.* Wydaje mi się, że określenie : „stres oksydacyjny jelit” jest zbyt dużym skrótem myślowym Autorki. Może lepiej byłoby napisać: ...stres oksydacyjny w enterocytach?

- 2) W rozdziale **Hipoteza badawcza, cel i zakres pracy**, w podrozdziale „zakres prowadzonych badań” (str. 12), Autorka dokładnie sprecyzowała jakie wskaźniki posłużyły jej do oceny efektów produkcyjnych i immunologicznych. Nie wykazała zaś jakie wskaźniki biochemiczne i antyoksydacyjne były przedmiotem jej badań. Szkoda zatem, że zabrakło tego w opracowaniu.
- 3) W rozdziale **Skrócony opis przeprowadzonych badań** na str. 16 znajduje się podrozdział „stosowane metody analityczne”. Uważam, że sformułowanie „metody analityczne” w tym podrozdziale powinno być zastąpione innym określeniem np. analizy laboratoryjne. Moim zdaniem pojęcie „metoda analityczna” jest pojęciem bardzo precyzyjnym; kojarzy się ze sposobem wykrywania lub oznaczania analitu w próbie, ale przy użyciu konkretnych technik analitycznych np. spektroskopowych, chromatograficznych czy immunoenzymatycznych, które rzeczywiście były zastosowane w procesie badawczym. Uważam, że nie można zatem jako metody uznać wykorzystania aparatu, testu czy tzw. kitu, które są tylko użytym w tym przypadku narzędziem. Ponadto, zgodnie z metodyką zawartą w publikacji nr 3, wskaźniki biochemiczne i poziom IgG oznaczano przy pomocy aparatu Horiba, nie zaś testem Horiba, jak Autorka podaje na str. 16, pkt. 4.

Ponadto w pkt. 10 tego samego podrozdziału Autorka podaje, że „aktywność enzymów oznaczano metodą Cleiborne’a (1985)”. Czy aktywność wszystkich enzymów Doktorantka oznaczyła wykorzystując jedną procedurę analityczną? Z załączonych publikacji to nie wynika.

- 4) W rozdziale **Podsumowanie i wnioski** Doktorantka podaje, że zarówno jej badania, jak i innych autorów, dowodzą, że metionina wpływa na poprawę efektów produkcyjnych i wartości rzeźnej. Z uwagi na to, że oddziaływanie tego aminokwasu na immunologiczne i antyoksydacyjne wskaźniki stanowiło aspekt nowatorski w przeprowadzonych badaniach szkoda, że Autorka formułując wnioski dotyczące tych zagadnień potraktowała je jako uogólnienia, a nie precyzyjne wnioski. Proszę zatem o dopełnienie informacji zawartych w 3 i 4 punkcie tego rozdziału; od jakiego poziomu wpływ tego aminokwasu możemy uznać za korzystny dla systemu immunologicznego i antyoksydacyjnego?

Doktorantka opracowując wyniki uzyskanych badań w poszczególnych publikacjach, które ukazały się w latach 2014-2016 (publikacja 1 i 2), a stanowiących przedmiot dysertacji, w podsumowaniach podkreślała konieczność kontynuacji badań w celu ustalenia, o ile należy zwiększyć poziom metioniny w diecie (w stosunku do zalecanego przez NRC), aby poprawić odporność i wyniki wzrostowe indyków. Czy zatem po wykonaniu tak licznych badań (zarówno tych, które są przedmiotem dysertacji, jak i wykonanych później) Doktorantka ma już zdanie na ten temat i potrafi doprecyzować ten wniosek?

Brakuje mi także konkluzji, czy na podstawie uzyskanych wyników można już ocenić czy warto wzbogacać paszę bazową w większe dawki metioniny i do którego okresu odchowu indyków; do kiedy jest to opłacalne, biorąc pod uwagę ekonomikę produkcji. Wiadomym jest,

że ze względu na duży koszt aminokwasów, zwiększenie poziomu tego składnika, przekraczającego zalecenia NRC (1994), może być z ekonomicznego punktu widzenia po prostu nieopłacalne.

Przedstawione uwagi o charakterze porządkowym i wyjaśniającym, nie umniejszają wartości recenzowanej rozprawy i nie mają wpływu na jej jednoznacznie pozytywną i bardzo wysoką ocenę końcową.

**Reasumując stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska, stanowiąca spójny tematycznie cykl trzech publikacji pod wspólnym tytułem: „Reakcja indyków na zróżnicowaną zawartość metioniny w paszy”, w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim określonym w ustawie z dnia 14. marca 2003r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule z zakresu sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, Dz. U. z 2005 nr 164, poz. 1365 oraz Dz. U. z 2011 r. nr 84, poz. 455). Dlatego też, przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie wniosek o dopuszczenie mgr inż. Magdaleny Kubińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Wprawdzie rozprawę doktorską stanowi cykl 3 publikacji, warto jednak zaznaczyć, że po ich opublikowaniu Doktorantka była nadal bardzo aktywna naukowo, uczestnicząc w kolejnych doświadczeniach, będących kontynuacją badań ujętych w ocenianym przeze mnie opracowaniu. Efektem działalności badawczo-publicacyjnej mgr inż. Magdaleny Kubińskiej jest współautorstwo w kolejnych publikacjach w czasopismach znajdujących się na liście JCR. Całość problematyki eksperymentalnej to badania atrakcyjne pod względem poznawczym i aplikacyjnym, pracochłonne i co warto podkreślić, wykonane w zespołach badawczych, także z naukowcami z poza macierzystej uczelni. W związku z powyższym wnioskuję o wyróżnienie niniejszej rozprawy stosowną nagrodą.

*Magdalena Krause*