

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. wet. Beaty **Kaczmarek**

pt. „ *Kształtowanie się wybranych elementów gospodarki mineralnej i odporności u cieląt pochodzących od matek z zaburzeniami homeostazy mineralnej w szczycie laktacji i zasuszeniu*”

wykonanej pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Krzysztofa Lutnickiego – promotora oraz dr hab. Łukasza Kurka – promotora pomocniczego w Zakładzie Chorób Wewnętrznych Zwierząt Gospodarskich i Koni Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Recenzja została wykonana zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 30.06. 2022 r.

Prowadzona przez ostatnie dziesięciolecia intensywna selekcja genetyczna wraz z wprowadzeniem nowych systemów żywienia i utrzymania bydła doprowadziła do znacznego wzrostu wydajności krów mlecznych, szczególnie rasy H-F. Niestety, genetycznie uwarunkowane zwiększanie wydajności jest tylko częściowo skorelowane z możliwością pobierania przez wysokomleczne krowy odpowiedniej ilości pokarmu zawierającego właściwą kompozycję makro i mikroelementów. Dodatki mineralno-witaminowe, energetyczne i białkowe stosowane w żywieniu są skuteczne i efektywne, jednak tylko do pewnego poziomu wydajności produkcyjnej. W nowoczesnej hodowli bydła (nakierunkowanej na uzyskanie jak największej wydajności mlecznej) obserwuje się coraz częściej tendencję do zmniejszania się częstotliwości występowania klinicznych przypadków chorobowych z jednoczesnym podwyższeniem pojawiania się stanów podklinicznych generujących duże straty produkcyjne. Do najczęściej występujących problemów zdrowotnych pojawiających się w formie podklinicznej u krów wysokoprodukcyjnych należą zaburzenia metaboliczne takie jak: ketoza, syndrom stłuszczenia wątroby czy choroby niedoborowe, spośród których największą rolę odgrywa niedobór makroelementów. . Newralgicznym okresem dla życia wysokowydajnej krowy (w którym te problemy zdrowotne ulegają nasileniu) jest okres przejściowy definiowany jako czas zawarty pomiędzy 3 tygodniami przed porodem do 3 tygodni po porodzie. Należy podkreślić, że częstość

występowania podklinicznych form chorób przemiany materii wzrasta, mimo poprawiających się warunków hodowlanych, żywieniowych, stosowania najlepszych metod postępowania profilaktycznego oraz coraz większej świadomości hodowców. Niedobór związków mineralnych u krów matek może mieć istotny wpływ na kształtowanie się statusu mineralnego u ich potomstwa, szczególnie osesków, dodatkowo zaburzenia te mogą bezpośrednio wpływać na rozwój zwierząt – odchów, przyrosty, odporność, produkcję mleczną i mięsną. Mogą także być przyczyną późniejszej podatności na choroby zakaźne cieląt i młodzięży.

Recenzowana praca doktorska lek. wet. Beaty Kaczmarek podejmuje temat, gdyż głównym celem pracy jest próba prześledzenia wpływu niedoborów wybranych makroelementów (Ca, P, Mg,) na zachowanie homeostazy organizmu krów mlecznych w okresie okołoporodowym oraz na status mineralny i immunologiczny ich potomstwa ze szczególnym uwzględnieniem jakości siary i parametrów odpornościowych w pierwszych 7 dniach po porodzie. Badania stężeń IgG i IgM oraz analiza wybranych parametrów siary pozwoliły na zbadanie, czy i w jakim zakresie status immunologiczny nowonarodzonych cieląt jest zależny od statusu mineralnego krów przed porodem, natomiast całość badań może być dodatkowo przydatna w określaniu sposobu postępowania z krowami, jak i cielętami w okresie okołoporodowym w stadach z niedoborami mineralnymi.

Eksperyment będący podstawą do napisania rozprawy doktorskiej został wykonany na szerokim materiale doświadczalnym obejmującym 100 sztuk bydła mlecznego rasy holsztyńsko – fryzyjskiej w wieku 3,5-8 lat oraz 50 cieląt, pochodzących z trzech gospodarstw z terenu Lubelszczyzny, objętych rutynową kontrolą kliniczną i laboratoryjną oraz będących pod oceną, jakości i ilości produkowanego mleka. Prowadzone obserwacje obejmowały okres zasuszenia przed porodem oraz czas od 1 do 7 dnia po porodzie. Stada liczyły średnio 60 sztuk bydła. W 2 gospodarstwach stosowany był uwiązowy system utrzymania, a w jednym wolnostanowiskowy. Żywienie zwierząt oparte było o TMR, która stanowiła kompletną dawkę pokarmową, dostosowaną do okresu fizjologicznego, w którym znajdowały się krowy. Zwierzęta do badań dobierano na podstawie szczegółowego wywiadu oraz analiz laboratoryjnych. Doświadczenie zostało przeprowadzone na krowach, u których podczas badania klinicznego i rutynowych badań laboratoryjnych na początku okresu zasuszania stwierdzono niedobory mineralne nie dające typowych objawów klinicznych. Z doświadczenia wykluczono zwierzęta, u których w przeprowadzonym badaniu klinicznym po porodzie stwierdzono objawy wskazujące na zaburzenia okresu okołoporodowego oraz poporodowe problemy z układem rozrodczym (nieprawidłowa involucja macicy, wypadanie

macicy, urazy i stany zapalne pochwy). Z badań wyłączono również zwierzęta, które wykazywały objawy kliniczne chorób poporodowych – zalegania lub porażenia poporodowego, krowy z urazami, kulawiznami oraz krowy leżące. Wydajność mleczna krów objętych doświadczeniem wynosiła średnio około 40 kg mleka, podczas gdy wydajność całego stada w poszczególnych gospodarstwach wynosiła około 32 kg mleka. Z doświadczenia wyeliminowano także krowy, u których stwierdzono zmiany w parametrach charakterystycznych dla funkcji narządów mięsnych oraz zwierzęta, u których w badaniu biochemicznym krwi stwierdzono podwyższone wartości białka całkowitego w surowicy.

Zwierzęta objęte doświadczeniem zostały podzielone na 5 grup. Grupę kontrolną stanowiły krowy klinicznie zdrowe, nie wykazujące zmian w stężeniu makroelementów w surowicy w okresie przejściowym i w poprzedniej laktacji oraz ich cielęta. Grupę doświadczalną pierwszą utworzono z krów hipokalcemicznych w analogicznym okresie oraz ich cieląt, grupa druga były to krowy hipomagnezmiczne i ich cielęta, grupa trzecia krowy hipofosfatemiczne i ich cielęta natomiast grupę czwartą stanowiły krowy, u których stwierdzono niedobór wszystkich trzech makroelementów i ich cielęta. Krew do badań od krów pobierano czterokrotnie: w okresie przedwycieleniowym, w pierwszej, trzeciej i siódmej dobie po porodzie. Materiał do badań pobierano zawsze o tej samej porze, w godzinach porannych, po udoju. Badania krwi krów obejmowały parametry morfologiczne oraz oznaczanie surowiczego stężenia Ca, Pn i Mg. U cieląt krew była pobierana w 1, 3 i 7 dobie od porodu w celu określenia wskaźników morfologicznych oraz oznaczenia surowiczego stężenia immunoglobulin IgG i IgM. Uzupełnieniem wykonanych oznaczeń była analiza parametrów siary (3 dzień po porodzie) oraz mleka (7 dzień po porodzie) pod kątem stężenia tłuszczu, białka i mocznika oraz liczby komórek somatycznych.

Analizę statystyczną otrzymanych wyników oraz ilustracje graficzne wykonano przy użyciu programu komputerowego Statistica 10.0. Dla wszystkich wyników obliczono średnią statystyczną, odchylenie standardowe oraz zakres danych. Do obliczenia istotności różnic wykorzystano metodę rang U Manna–Whitney’a. Wykonano analizę korelacji stężenia badanych makroelementów ze stężeniem IgG i IgM oraz pozostałych analizowanych parametrów z zastosowaniem współczynnika korelacji rang (ρ) metodą Spearmana. Wyniki przedstawiono w tabelach oraz w postaci ilustracji graficznych.

Wszechstronna analiza występujących w regionie niedoborów pozwoliła Doktorantce na właściwy dobór i późniejszą wiarygodną ocenę statusu mineralnego i immunologicznego badanych zwierząt oraz wyciągnięcie odpowiednich wniosków mających istotny, praktyczny charakter. Podjęcie tematyki niedoborów mineralnych u bydła mlecznego i ich wpływu na

odporność bierną potomstwa uważam za bardzo właściwe, gdyż w dostępnej literaturze brakuje prac opisujących te problemy w sposób kompleksowy, szczególnie w odniesieniu do stanów podklinicznych i przebiegających w sposób atypowy, co generuje duże straty ekonomiczne i nastęrcza trudności w ich zwalczaniu.

Recenzowana praca ma układ typowy dla rozpraw doktorskich, zawiera 70 stron tekstu, w tym rozdziały takie jak: wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki badań, dyskusja, wnioski, piśmiennictwo (przedstawione na 5 stronach i liczące w sumie 102 pozycje) oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Dokumentacja graficzna wyników badań została przedstawiona w postaci 27 tabel i 26 wykresów zamieszczonych bezpośrednio w tekście, którego dotyczą, a nie w osobnym rozdziale na końcu dysertacji, przed spisem piśmiennictwa zawierającego cytowane pozycje literaturowe, co pozwala na łatwe śledzenie wyników doświadczenia. Proporcje poszczególnych rozdziałów są prawidłowo zachowane, zastosowane podrozdziały zarówno w spisie treści jak i odpowiednio w każdym rozdziale ułatwiają poszukiwanie fragmentów tekstu interesujących czytającego.

Tytuł recenzowanej rozprawy doktorskiej jasno odzwierciedla cel zaplanowanych badań, który został właściwie zrealizowany. We wstępie, liczącym 13 stron, Doktorantka omawia najistotniejsze aspekty związane z nowoczesnym żywieniem bydła mlecznego oraz przedstawia szczegółowo rolę najważniejszych wskaźników mineralnych przydatnych w monitoringu stanu zdrowia krów mlecznych oraz omawia rolę siary oraz jej wpływ na parametry odporności biernej warunkujące zdrowie cieląt. Doktorantka słusznie zauważa, że nawet 20% krów w okresie okołoporodowym i szczycie laktacji jest dotkniętych niedoborem jednego lub kilku elementów mineralnych w badanych próbkach surowicy, a zdarzają się stada gdzie ten odsetek osiąga 50%. Dlatego ważne jest monitorowanie laboratoryjne stanu zdrowia krów również przez kolejne trzy tygodnie po porodzie, a zaburzeń przemiany mineralnej co najmniej do 7 dni po porodzie. Wstęp napisany jest starannie, jego charakter merytoryczny nie budzi żadnych zastrzeżeń, a styl pracy jest bardzo przejrzysty i klarowny dla czytającego. Sposób przekazywania treści zawartych w tym rozdziale świadczy o dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki, szerokiej znajomości aktualnego piśmiennictwa oraz właściwym doborze cytowanych pozycji. W dalszej części pracy Doktorantka formułuje jasno sprecyzowany cel badawczy i następnie opisuje materiał i metody. Doświadczenie zostało przeprowadzone na właściwie dobranej liczbie krów i cieląt, harmonogram badań nie budzi zastrzeżeń, a użyte metody badań laboratoryjnych są wiarygodne i adekwatne do stosowanych w innych badaniach tego typu opisywanych w literaturze.

W swojej pracy Doktorantka skoncentrowała się na prześledzenia wpływu niedoborów wybranych makroelementów (Ca, P, Mg.) na zachowanie homeostazy organizmu krów mlecznych w okresie okołoporodowym oraz na status mineralny i immunologiczny ich potomstwa. Kandydatka wykazała, że łączny niedobór Ca, P, Mg u krów przed wycieleniem skutkował wyraźnym obniżeniem zarówno wapnia całkowitego, jak i frakcji zjonizowanej w surowicy. Natomiast największy spadek zawartości frakcji zjonizowanej Ca stwierdzono u krów hipokalcemicznych w 1 dobie po porodzie. Cielęta pochodzące od matek hipofosfatemicznych wykazywały w 1 dobie życia najniższe stężenie wapnia całkowitego we krwi, podczas gdy zawartość frakcji zjonizowanej była porównywalna do grupy kontrolnej. Natomiast cielęta pochodzące od matek hipokalcemicznych miały w 1 dobie życia wyraźnie niższe stężenia Ca zjonizowanego, które na relatywnie niskim poziomie utrzymywały się w następnych okresach badania. Istotnym i bardzo ciekawym wynikiem uzyskanym w recenzowanej pracy jest wykazanie, że niedobór makroelementów wpływa istotnie na jakość siary i zmniejsza zdecydowanie zawartość w niej IgG. Bardzo ważny aspekt praktyczny przeprowadzonych badań stanowi wykazanie także, że u cieląt pochodzących od krów z najwyższym stopniem niedoboru makroelementów dochodzi do zdecydowanego obniżenia stopnia odporności biernej

Opisane w recenzowanej pracy badania pozwoliły Kandydatce na wyciągnięcie czterech wniosków podsumowujących otrzymane wyniki. Wnioski stanowią odpowiedź na postawiony cel badawczy, natomiast całokształt wykonanych badań wnosi dużo do poszerzenia wiedzy o zaburzeniach mineralnych u krów mlecznych i ich wpływie na potomstwo jednocześnie umożliwiając ich praktyczne zastosowanie, co jest dodatkową wartością pracy.

Z obowiązku Recenzenta należy jednak zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia, których nie ustrzegła się Autorka w trakcie przygotowywania rozprawy doktorskiej, w większości natury stylistyczno-edytorskiej (uwagi zamieszczono w tekście), których korekta pozwoli na bardziej przejrzystą formę w trakcie ostatecznej publikacji do druku. Poniżej, niektóre z nich:

- w rozdziale „materiał i metody” Doktorantka nie podała liczebności zwierząt w poszczególnych grupach. Można się tylko domyślać, że grupy liczyły po 20 krów i 10 cieląt
- na stronie 9 stężenie Ca jest podane w mg/dl, natomiast w tabeli 1 w mmol/l – ta druga jednostka powinna być obowiązująca

- na stronie 13 stężenie Mg jest także podane w mg/dl – powinno być w mmol/l
- występują pewne nieścisłości w sposobie cytowania literatury np.: strona 17 – jest cytowanie „Wąsowska, Pupel 2018”, natomiast kilka wersów niżej „Wasowska E, Pupel K 2018. Takich nieścisłości w tekście jest więcej.
- na stronie 19 gęstość siary jest podana bez przecinka : 1032-1038 g/l, powinno być 1,032 g/l.
- wydaje się, że wniosek trzeci i czwarty powinien być połączony, gdyż obydwa odnoszą się do zależności statusu immunologicznego krów i ich cieląt od zawartości makroelementów w okresie przedporodowym.
- ze względu na dosyć zróżnicowany wiek użytych w doświadczeniu krów (3,5-8 lat) cennym uzupełnieniem wykonanych badań byłaby analiza statusu mineralnego i immunologicznego w grupach wiekowych – porównanie różnic pomiędzy krowami starszymi i młodszymi oraz ich potomstwem. Taką analizę można przeprowadzić przy przygotowaniu publikacji do druku.

Wspomniane uwagi mają głównie charakter porządkowy i w żadnym stopniu nie wpływają na bardzo dobrą ogólną ocenę recenzowanej pracy doktorskiej.

Reasumując ocenę całości dysertacji należy podkreślić trafność wyboru tematu, aplikacyjność, prawidłowe przygotowanie i przeprowadzenie oraz szeroki wachlarz wykonanych badań w trudnych warunkach eksperymentu na krowach mlecznych i cielętach. Wymagało to dużego wysiłku ze strony Doktorantki, co zaowocowało przejrzystością opracowanych wyników i prawidłowo wyciągniętymi wnioskami, mającymi duże znaczenia poznawcze i praktyczne. Uzyskane wyniki badań zostały umiejętnie skonfrontowane ze współczesnym piśmiennictwem dotyczącym tematyki badań. Całość sprawia pozytywne wrażenie dobrze zaplanowanej i przemyślanej procedury badawczej, świadczy o opanowaniu warsztatu i solidności w badaniach.

Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska Pani lek. wet. Beaty Kaczmarek pt. *„Kształtowanie się wybranych elementów gospodarki mineralnej i odporności u cieląt pochodzących od matek z zaburzeniami homeostazy mineralnej w szczycie laktacji i zesuszeniu”* spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, w pełni odpowiada warunkom określonym w Ustawie z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65 poz. 595 z późn. zm.) w zw. z art. 179 ust. 3 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 30 sierpnia 2018r. poz. 1669).

W związku z powyższym przedstawiam Radzie Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wniosek o dopuszczenie Pani lek. wet. Beaty Kaczmarek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Przemysław Sobiech

