

### **Recenzja rozprawy doktorskiej**

**mgr inż. lek. wet. Zuzanny Stefanii Całyniuk pt. " Wpływ różnych proporcji lizyny, argininy i metioniny w diecie na metabolizm oraz wyniki produkcyjne indyków" wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Katarzyny Ognik w Katedrze Biochemii i Toksykologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

#### **Ocena formalna**

Podstawę formalną do wykonania opinii stanowiło pismo z dnia 5.03.2024 r. przesłane przez prof. dr hab. Brygidę Ślaską, Przewodniczącą Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie zawierające prośbę o wydanie opinii. Ocenę wykonano na podstawie dokumentacji, spełniającej wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 ze zm.).

Podstawą opiniowanej rozprawy doktorskiej jest powiązany tematycznie cykl pięciu oryginalnych prac twórczych pod wspólnym tytułem „Wpływ różnych proporcji lizyny, argininy i metioniny w diecie na metabolizm oraz wyniki produkcyjne indyków”, tj:

1. Jankowski J., Mikulski D., Mikulska M., Ognik K., Całyniuk Z., Mróz E., Zduńczyk Z. 2020. The effect of different dietary ratios of arginine, methionine, and lysine on the performance, carcass traits, and immune status of turkeys. *Poultry Science* 99:1028–1037, doi: 10.1016/j.psj.2019.10.008 (MEiN = 140; IF= 3,352)
2. Ognik, K., Całyniuk, Z., Mikulski, D., Stępniewska, A., Konieczka, P., Jankowski, J. 2021. The effect of different dietary ratios of lysine, arginine and methionine on biochemical parameters and hormone secretion in turkeys. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 105: 108–118. <https://doi.org/10.1111/jpn.13433> (MEiN = 100; IF= 2,718)
3. Jankowski, J., Ognik, K., Całyniuk, Z., Stępniewska, A., Konieczka, P., Mikulski, D. 2021. The effect of different dietary ratios of lysine, arginine and methionine on protein nitration and oxidation reactions in turkey tissues and DNA. *Animal* 15: 100183. <https://doi.org/10.1016/J.ANIMAL.2021.100183> (MEiN = 200; IF= 3,730)

4. Całyniuk, Z., Mikulski, D., Krauze, M., Ognik, K., Jankowski, J. 2022. Selected metabolic, epigenetic, nitration and redox parameters in turkeys fed diets with different levels of arginine and methionine. *Annals of Animal Science* 22: 601–612. <https://doi.org/doi:10.2478/aoas-2021-0069> (MEiN = 140; IF= 2,667)
5. Całyniuk, Z., Cholewińska, E., Konieczka, P., Ognik, K., Mikulski, D., Jankowski, J. 2022. The effect of the application of diets with varied proportions of arginine and lysine on biochemical and antioxidant status in Turkeys. *Annals of Animal Science* 22: 1041–1055. <https://doi.org/10.2478/aoas-2021-0081> (MEiN = 140; IF= 2,667)

Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w latach 2020-2022 w czterech uznanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR) – Poultry Science (1 praca), Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (1 praca), Animal (1 praca) oraz Annals of Animal Science (2 prace). Sumaryczny Impact Factor dla wymienionych powyżej oryginalnych prac twórczych wynosi 15,134, wartość wskaźnika IF poszczególnych prac mieści się w zakresie od 2,667 do 3,730. Łączna wartość punktowa wykazanych publikacji według listy czasopism punktowanych MNiSA/MEiN wynosi 720 punktów, zgodnie z rokiem ich wydania.

Wszystkie wykazane publikacje mają charakter wieloautorski. Niestety Doktorantka nie załączyła oświadczeń dotyczących udziału w w/w pracach, dlatego trudno jednoznacznie ocenić jej indywidualny wkład w powstanie przedstawionych publikacji. Z oświadczeń Współautorów wynika jednak, że był on wiodący i polegał na opracowaniu hipotezy badawczej i wyników badań oraz przygotowaniu manuskryptów. Wszystkie prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej były recenzowane i uzyskały pozytywne opinie niezależnych recenzentów przed ich opublikowaniem, co potwierdza ich oryginalność, rzetelność i dużą wartość naukową. Znaczący jest fakt że do tej pory publikacje te cytowano już 39 razy.

Przedłożona do recenzji rozprawa liczy 42 ponumerowane strony i zawiera: stronę tytułową, wykaz prac stanowiących podstawę dysertacji doktorskiej, spis treści, wykaz skrótów użytych w pracy doktorskiej, streszczenie i słowa kluczowe w języku polskim i angielskim, wstęp (4 strony), hipotezę badawczą i cel badań, opis materiału i metod badawczych (ponad 5 stron), omówienie wyników badań (8 stron) oraz wnioski. Spis piśmiennictwa obejmuje 94 pozycje. Ponadto w przedłożonej pracy zamieszczono kopie publikacji stanowiących podstawę opracowania rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia współautorów, deklarujących swój udział w badaniach i przygotowaniu publikacji będących podstawą dysertacji doktorskiej. Jak już wspomniałam zabrakło oświadczeń Doktorantki,



określających jej wkład w przygotowanie publikacji naukowych, co z punktu widzenia oceny formalnej stanowi dość istotne uchybienie, prawdopodobnie jednak wynikało to z przeoczenia podczas składania rozprawy do druku.

### **Ocena merytoryczna**

Badania do niniejszej rozprawy doktorskiej przeprowadzono w ramach grantu badawczego finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w Polsce nr: 2017/27/B/NZ9/01007 pt: „Antyoksydacyjne i immunostymulujące oddziaływanie zróżnicowanych poziomów i wzajemnego stosunku lizyny, argininy i metioniny w mieszankach dla indyków rzeźnych”, w którym Doktorantka była wykonawcą.

Problematyka pracy mająca na celu określenie optymalnych poziomów i proporcji lizyny, argininy i metioniny w diecie indyków rzeźnych, które pomogą zwiększyć potencjał wzrostowy ptaków ale również ograniczą zaburzenia metaboliczne mające wpływ na status zdrowotny organizmu, jest według mnie bardzo cenna i doskonale wpisuje się w aktualne trendy badawcze. Polska od lat jest liderem w produkcji mięsa drobiowego, w tym indyczego w Unii Europejskiej oraz trzecim największym eksporterem drobiu na świecie. W nowoczesnej produkcji drobiarskiej wykorzystuje się indyki rzeźne o dużym potencjale genetycznym, który pozwala na osiągnięcie wysokiej masy ciała przy jednocześnie niskim zużyciu paszy. Aby osiągnąć ten efekt, niezbędne jest zapewnienie ptakom właściwie zbilansowanych diet, dostosowanych do ich zapotrzebowania na składniki pokarmowe na każdym etapie odchowu. Z drugiej strony, ciągła selekcja indyków pod kątem wydajności wzrostu osłabiła odporność ptaków, kluczowa staje się zatem kwestia doskonalenia programów żywieniowych nie tylko pod względem uzyskania korzystniejszych wyników wzrostowych ale również poprawy statusu zdrowotnego organizmu ptaków. Stąd też wybór problemu badawczego recenzowanej rozprawy doktorskiej mgr inż. lek. wet. Zuzanny Stefanii Całyniuk jest w pełni uzasadniony, zarówno pod względem poznawczym jak i aplikacyjnym.

Rozdział **Wstęp** stanowi wprowadzenie w główne problemy badawcze podejmowane w ramach pracy. Autorka sprawnie definiuje potrzebę precyzyjnego bilansowania niezbędnych aminokwasów w mieszankach paszowych dla indyków rzeźnych a następnie szczegółowo opisuje rolę i działanie lizyny, metioniny i argininy oraz ich wzajemnych zależności w organizmie ptaków. Rozdział ten został opracowany na podstawie właściwie dobranych i poprawnie zacytowanych pozycji piśmiennictwa i jest napisany zwięzłym językiem naukowym. W tym miejscu mam jedną uwagę – ponieważ Doktorantka posługuje się sporą

ilością pozycji piśmiennictwa innych autorów, bardziej trafne byłoby zatytułowanie rozdziału „Wstęp i przegląd piśmiennictwa”.

Następną część opracowania stanowią **Hipoteza badawcza** i **Cel badań**. Obydwa rozdziały zostały opisane syntetycznie i przedstawione prawidłowo. Autorka sformułowała jedną, konkretną hipotezę badawczą, którą konsekwentnie weryfikuje w 3 doświadczeniach opisanych w rozdziale **Materiał i metody**. Cel badań jest poprawny i łączy się w logiczną całość z przedstawionym wcześniej wstępem oraz pozwala na weryfikację postawionej hipotezy badawczej.

W rozdziale **Materiał i metody** pani mgr inż. lek. wet. Zuzanna Stefania Całyniuk syntetycznie opisała metodologie każdego z trzech realizowanych doświadczeń. Na uwagę zasługuje fakt, że pomimo dość skomplikowanego układu doświadczalnego Doktorantka w sposób bardzo przejrzysty przedstawiła schemat badań na zwierzętach. Doświadczenia zaprojektowano prawidłowo, z odpowiednią ilością powtórzeń. W dalszej części przedstawiony został zakres badań wykonanych w celu oceny efektów fizjologicznych żywienia indyków mieszankami doświadczalnymi. W mojej opinii trafnym zabiegiem było ograniczenie opisu procedur pobrania materiału biologicznego do badań oraz omówienia zastosowanych metod analitycznych, które szczegółowo przedstawiono w publikacjach będących podstawą rozprawy doktorskiej. Pozwoliło to na ograniczenie objętości manuskryptu, a jednocześnie umożliwia czytelnikowi prześledzenie poszczególnych etapów prac badawczych.

W rozdziale **Omówienie wyników** Doktorantka syntetycznie omawia wyniki uzyskane w przeprowadzonych doświadczeniach, które zinterpretowano w oparciu o właściwie dobrane metody statystyczne. Autorka przedstawia wyniki kolejnych doświadczeń konfrontując je jednocześnie z osiągnięciami innych autorów, co ważne, skupiając się również na ich własnej interpretacji. Świadczy to o dużej wiedzy naukowej ale również dobrym przygotowaniu merytorycznym do rozwiązywania problemów badawczych. Konstrukcja rozdziału jest prawidłowa a wyniki omówiono w przeważającej części w sposób spójny i logiczny. W mojej opinii w pewnym momencie Autorka wprowadza jednak niepotrzebny zabieg „mieszania” doświadczeń (np. w omówieniu wyników wzrostowych pierwszego doświadczenia brak odniesienia do efektu interakcji obydwu czynników doświadczalnych (Lys i Met- s. 24), opis pojawia się dopiero podczas omawiania wyników drugiego doświadczenia (s.27). Rozumiem, że doświadczenia były ze sobą powiązane i wymagały wspólnej interpretacji, jednak przy tak dużym zakresie analiz oraz tabel zawartych w publikacjach powoduje to pewną dysharmonię. Dodatkowo, mam pewne zastrzeżenie dotyczące przedstawienia wyników wzrostowych



indyków w doświadczeniu 3. Doktorantka opisuje wyniki, które nie są opublikowane w żadnej z publikacji będących podstawą dysertacji doktorskiej. Wprawdzie w jednej ze wspomnianych prac Autorka wyjaśnia, że rezultaty opublikowano już wcześniej, powołując się na odpowiedni artykuł, jednak nie jest ona współautorką tej publikacji. W takim wypadku, w rozprawie doktorskiej (na stronie 29) powinno znaleźć się odwołanie do pracy Ognik i wsp. (2021) opublikowanej w czasopiśmie Scientific Reports. Co więcej, uważam, że Autorka powinna zrezygnować z wykazania wyników wzrostowych doświadczenia 3 w swojej dysertacji, skupiając się tylko na tych, które opublikowano w pracach będących podstawą cyklu publikacyjnego. Z pewnością nie wpłynęłoby to na umniejszenie wartości pracy, a pozwoliłoby uniknąć pewnych nieścisłości.

Rozdział **Wnioski** zawiera 3 konkretne, syntetyczne stwierdzenia/wnioski wynikające z przeprowadzonych badań. Każdy z wniosków dotyczy jednego doświadczenia a Autorka w pełni weryfikuje hipotezę badawczą, podając jasne informacje dotyczące optymalnych poziomów badanych aminokwasów w dietach dla indyków. To sprawia, że sformułowane przez Doktorantkę wnioski mają charakter nie tylko naukowy ale także są bardzo wartościowe dla praktyki drobiarskiej.

W rozdziale **Literatura** Autorka zamieściła 94 pozycje piśmiennictwa, które w 100. procentach są pracami anglojęzycznymi opublikowanymi w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Zostały one dobrane właściwie, zgodnie z podjętą tematyką badawczą i prawidłowo wykorzystane w tekście dysertacji.

Oceniana rozprawa doktorska została wykonana starannie i jest napisana poprawnie pod względem językowym i merytorycznym. Na uwagę zasługuje konieczność wykonania dużego zakresu precyzyjnych analiz laboratoryjnych a następnie opracowania i interpretacji uzyskanych wyników. Wymagało to od Doktorantki dużego zaangażowania i wkładu pracy oraz bardzo dobrej znajomości technik i metod analitycznych. Z obowiązku recenzenta proszę o zwrócenie uwagi na kilka kwestii i ustosunkowanie się do nich:

- Jaki był wkład doktorantki w badania, biorąc pod uwagę, że wyniki przedstawione w rozprawie były realizowane w ramach grantu badawczego finansowanego przez NCN?
- Doktorantka wspomina (str. 15), że ptaki nie są w stanie syntetyzować endogennej argininy ze względu na brak funkcjonalnego cyklu mocznikowego. Czy Autorka mogłaby wyjaśnić co miała na myśli formułując wyrażenie „funkcjonalny cykl mocznikowy” i dlaczego taki cykl mocznikowy nie zachodzi w organizmie ptaków?
- Proszę o wyjaśnienie, dlaczego podczas doświadczenia 3., wskaźniki biochemiczne i wskaźniki statusu redox krwi oraz tkanek pobierano do badań w 9. i 16. tygodniu życia

indykczek a krew do określenia ekspresji genów w 6 tygodniu życia? Biorąc pod uwagę, że dla ptaków jest to procedura dość stresogenna, czy nie można było pobrać krwi do ekspresji genów również w 9. tygodniu doświadczenia?

- Autorka często używa wyrażenia „konwersja paszy”, które jest typowym spolszczeniem angielskiego zwrotu „feed conversion ratio”. Sugerowałabym jednak pozostanie przy polskiej nazwie tego wskaźnika tj. zużycie paszy na kilogram masy ciała”, ewentualnie zastosować wyrażenie „współczynnik konwersji paszy”
- Na stronie 26. widnieje zapis „udział mięśnia z piersi w końcowej masie ciała indyków”, powinno być „udział mięśnia piersiowego w odniesieniu do końcowej masy ciała indyków”
- Omawiając wyniki doświadczenia 2. Doktorantka stwierdza, że niezależnie od poziomu Arg w diecie zwiększenie zawartości Met z 30% do 45% Liz zwiększa zażółcenie mięsa z piersi”. Poprawny zapis to „powoduje zwiększenie udziału barwy żółtej w mięśni piersiowym” Dodatkowo, nie znalazłam takich wyników w załączonej publikacji.

#### **Podsumowanie i wniosek końcowy**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. lek. wet. Zuzanny Stefanii Całyniuk pt. " Wpływ różnych proporcji lizyny, argininy i metioniny w diecie na metabolizm oraz wyniki produkcyjne indyków” jest bardzo interesująca z punktu widzenia poznawczego, a problem badawczy podjęty przez Doktorantkę ma duże znaczenie naukowe oraz aplikacyjne. Dysertację oceniam pozytywnie, należy podkreślić, że wnosi ona duży wkład w rozwój nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Wyrażam opinię, że przedstawiona do oceny praca spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim i odpowiada warunkom określonym w artykule 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz. U. z 2023 r. poz. 742 ze zm.). Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr inż. lek. wet. Zuzanny Stefanii Całyniuk do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.



dr hab. inż. Aleksandra Drażbo