

Prof. dr hab. inż. Wiesław Skrzypczak
Katedra Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

OCENA
pracy doktorskiej mgr inż. lek. wet. Zuzanny Stefanii Całyniuk

wykonanej w Katedrze Biochemii i Toksykologii,
Wydziału Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki,
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie,
pod kierunkiem prof. dr hab. Katarzyny Ognik

nt.

Wpływ różnych proporcji lizyny, argininy i metioniny w diecie na metabolizm oraz wyniki
produkcyjne indyków

Recenzja została przygotowana na wniosek Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
(pismo NE. 5200.3.1.2024 z dnia 5 marca 2024 roku)

1. Pani mgr inż. lek. wet. Zuzanna Całyniuk przedłożyła do oceny, jako oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, w rozumieniu art. 13 ust. 1 i 2 ustawy, z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami), rozprawę doktorską zatytułowaną: *Wpływ różnych proporcji lizyny, argininy i metioniny w diecie na metabolizm oraz wyniki produkcyjne indyków*. Praca ta stanowi spójny tematycznie zbiór pięciu oryginalnych prac naukowych:

- 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 [IF₍₂₀₂₀₎ **3,352; 140 pkt.**]
- 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> [IF₍₂₀₂₁₎ **2,718; 100 pkt.**]
- 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> [IF₍₂₀₂₁₎ **3,730; 200 pkt.**]
- **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> [IF₍₂₀₂₂₎ 2,667; 140 pkt.]

- o **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> [IF₍₂₀₂₂₎ 2,667; 140 pkt.]

Prace te zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych, o czym świadczy łączny IF, który wynosi 15,134 oraz suma punktów wynosząca 720 (wg wykazu MNiSW).

Wszystkie prace są współautorskie, w dwóch pracach doktorantka jest pierwszym autorem, a w kolejnych występuje na drugim, trzecim i piątym miejscu. Wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie ww. publikacji w pracy doktorskiej mgr inż. lek. wet. Zuzanny Całyniuk. Zatem, należy domniemywać, że Jej udział w projektowaniu i wykonywaniu badań oraz pisaniu prac, został uznany przez wszystkich współautorów za znaczący (w maszynopisie pracy doktorskiej brak stosownego oświadczenia Autorki).

2. Integralną częścią rozprawy doktorskiej, poza kopiami ww. prac, jest autorskie ich opracowanie obejmujące następujące rozdziały: Wstęp, Hipoteza badawcza, Cel badań, Materiał i metody, Omówienie wyników, Wnioski. Praca zawiera również streszczenie (w języku polskim i angielskim), wykaz prac naukowych wchodzących w skład cyklu, wykaz stosowanych skrótów, wybrane pozycje piśmiennictwa dotyczące przedmiotowych zagadnień oraz oświadczenia współautorów prac będących podstawą rozprawy doktorskiej, o ich udziale w badaniach i publikacjach.

Podjęty przez doktorantkę temat uważam za istotny, zarówno z poznawczego jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Mieści się on w nurcie badań dotyczących wpływu czynników żywieniowych na regulację przemian metabolicznych oraz odpowiedź immunologiczną i status antyoksydacyjny organizmu zwierząt.

We wstępie Autorka wprowadziła czytelnika w problematykę rozprawy dokonując krytycznej analizy piśmiennictwa, przede wszystkim na temat roli badanych aminokwasów w metabolizmie i żywieniu drobiu. Następnie, Doktorantka przedstawiła hipotezę badawczą oraz uzasadniła celowość podjęcia badań.

W rozdziale *Materiał i metody* Autorka przedstawiła w sposób ogólny modele zwierzęce, układ doświadczeń, wykonywane badania laboratoryjne i metody analizy statystycznej. Szczegóły metodyki zostały opisane w pracach będących podstawą rozprawy doktorskiej. Stanowi to asumpt do stwierdzenia, że metodyka doświadczeń została przemyślana, dobrze zaplanowana i dokładnie opisana. Eksperymenty uzyskały stosowne pozwolenia Lokalnej Komisji Etycznej ds. doświadczeń na zwierzętach.

Uzyskane wyniki Autorka omówiła w kolejnym rozdziale. Skomentowała je rzeczowo i logicznie, w oparciu o wcześniejsze badania prowadzone w macierzystej Katedrze i dane z piśmiennictwa. Przedstawiła własne spostrzeżenia i wysunęła uzasadnione supozycje.

Zwieńczeniem rozprawy są wnioski, które mają uzasadnienie w przeprowadzonych badaniach i zdaniem recenzenta, powinny stanowić inspirację do dalszych badań.

Wykaz piśmiennictwa obejmuje 94 publikacje, poprawnie zestawione i ściśle związane z pracą. Strona formalna rozprawy nie budzi zastrzeżeń.

3. Wyniki opublikowane w pracach będących podstawą rozprawy doktorskiej uzyskano w trzech doświadczeniach, przeprowadzonych na indyczkach w okresie od 1 dnia do 16 tygodnia życia.

W pierwszym doświadczeniu, badano wpływ zróżnicowanych dawek argininy (90, 100, 110%) oraz metioniny (30, 45%) w stosunku do stałej zawartości lizyny w diecie, rekomendowanej przez Research Council National (NRC, 1994). W drugim doświadczeniu badano wpływ takich samych dawek argininy i metioniny jak w doświadczeniu pierwszym, w stosunku do zawartości lizyny w diecie, rekomendowanej przez British United Turkeys (BUT, 2013). Układ pierwszego i drugiego doświadczenia był zbieżny. Doświadczenia przeprowadzono w 4, czterotygodniowych okresach żywieniowych, w 6 grupach doświadczalnych i 8 powtórzeniach. W obu doświadczeniach wykorzystano po 864 ptaki. Wykorzystując wyniki uzyskane w tych badaniach przeprowadzono trzecie doświadczenie, w którym badano wpływ dwóch dawek argininy: 95% i 105% w stosunku do lizyny, której zawartość w diecie była zgodna z zaleceniami NRC (1994) oraz o 10% wyższa. W doświadczeniu wykorzystano 576 ptaków. Indyczki były podzielone na 4 grupy doświadczalne, każda grupa składała się z 8 powtórzeń (po 18 ptaków każde).

We wszystkich doświadczeniach analizowano wyniki odchowu indyków na podstawie przyrostów masy ciała, konwersji paszy oraz przeżywalności ptaków w kolejnych tygodniach życia (1-4, 5-8, 9-12 i 13-16). Ponadto, zgodnie z metodyką, w ramach poszczególnych doświadczeń określano, m.in.: (a) wskaźniki biochemiczne krwi (np. stężenie glukozy, białka ogólnego, cholesterolu całkowitego i frakcji HDL, triglicerydów (TG), kreatyniny, aktywność aminotransferaz alaninowej i asparaginowej, fosfatazy zasadowej, gammaglutamylotransferazy, stężenie Fe, Cu, Zn, Ca, P, Mg, poziom dopaminy, noradrenaliny, histaminy, serotoniny, insuliny, glukagonu, T3, T4.), (b) wskaźniki statusu redoks oraz nitracji białek we krwi (np. poziom dialdehydu malonowego, pochodnych karbonylowych, 8-hydroksydeoksyguanozyny, 3-nitrotyrozyn, całkowitego potencjału antyoksydacyjnego, glutationu całkowitego, aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, peroksydazy glutationowej), (c) wskaźniki statusu redoks w wątrobie i wybranych tkankach (np. poziom dialdehydu malonowego, glutationu, aktywność dysmutazy ponadtlenkowej,

katalazy), (d) wskaźniki statusu immunologicznego we krwi (np. poziom czynnika martwicy nowotworów (TNF- α), immunoglobuliny IgA oraz IgY, interleukiny 6 i 2, ceruloplazminy, kaspazy 3 i 8), (d) ekspresję wybranych genów we krwi (dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, peroksydazy glutationowej).

Wyniki, uzyskane w pierwszym doświadczeniu, opublikowano w trzech pracach: (a) *The effect of different dietary ratios of arginine, methionine, and lysine on the performance, carcass traits, and immune status of turkeys*; (b) *The effect of different dietary ratios of lysine, arginine and methionine on biochemical parameters and hormone secretion in turkeys*; (c) *The effect of different dietary ratios of lysine, arginine and methionine on protein nitration and oxidation reactions in turkey tissues and DNA*.

Do istotnych wyników tych badań zaliczam przede wszystkim wykazanie że:

- wyższy poziom metioniny w diecie (45% zawartości lizyny) zwiększa końcową masę ciała indyków i powoduje wzrost stężenia albumin w osoczu,
- zróżnicowana zawartość argininy w diecie nie wywierała istotnego wpływu na wyniki odchowu indyków do 16 tygodnia życia,
- diety z podwyższoną zawartością argininy (110% zawartości lizyny) mogą poprawić status antyoksydacyjny indyków oraz wywierać korzystny wpływ na udział mięśni piersiowych w końcowej masie ich ciała,
- wzrost zawartości metioniny (z 30% do 45% zawartości lizyny) stymuluje system obronny antyoksydacyjnej indyków, niezależnie od poziomu argininy w diecie,
- zróżnicowane poziomy argininy i metioniny w stosunku do lizyny nie wpływały na wydzielanie neuroprzekaźników ani hormonów regulujących metabolizm glukozy,
- przy stosowaniu w diecie indyków poziomu lizyny zalecanego przez NRC (1994), optymalny poziom argininy wynosi 100%, a metioniny 45% w stosunku do zawartości lizyny.

Wyniki uzyskane w drugim doświadczeniu opisano w pracy *Selected metabolic, epigenetic, nitration and redox parameters in turkeys fed diets with different levels of arginine and methionine*. Do istotnych wyników tych badań zaliczam wykazanie, że:

- u rosnących indyków karmionych dietą o wyższej zawartości lizyny (rekomendowanej przez BUT, 2013), zawartość argininy można obniżyć do wartości 90% w stosunku do zawartości lizyny, bez negatywnego wpływu na status przeciwutleniający, parametry biochemiczne krwi i wydajność,
- zwiększona zawartość argininy w diecie indyków (110% zawartości lizyny) zwiększa ryzyko utleniania lipidów, nitrowanie białek i występowania niekorzystnych zmian w stężeniu hormonów regulujących gospodarkę węglowodanową organizmu,

- wzrost zawartości metioniny w diecie do 45% zawartości lizyny minimalizuje utlenianie lipidów, białek i DNA oraz zwiększa potencjał antyoksydacyjny indyków, niezależnie od zawartości argininy w diecie.

Wyniki uzyskane w trzecim doświadczeniu opisano w pracy *The effect of the application of diets with varied proportions of arginine and lysine on biochemical and antioxidant status in Turkeys*. Wykazano m.in., że zwiększenie ilości lizyny w diecie indyków o 10% w stosunku do zaleceń żywieniowych NRC wywiera korzystny wpływ na metabolizm i status antyoksydacyjny ptaków oraz, że wówczas można obniżyć udział argininy w diecie dla indyków do poziomu 95% zawartości lizyny.

W podsumowaniu chciałbym zaznaczyć, że zaplanowane i wykonane doświadczenia miały bardzo szeroki zakres, zostały wykonane z wykorzystaniem nowoczesnych metod analitycznych i wysokospecjalistycznych technik badawczych, zatem wymagały od Doktorantki dużej wiedzy, umiejętności i zaangażowania, zarówno na etapie wykonywania eksperymentów, jak i pracy laboratoryjnej oraz opracowywania wyników. Na tej podstawie uważam, że Doktorantka potwierdziła umiejętność pracy naukowej w zespole badawczym oraz przygotowanie do samodzielnego prowadzenia badań.

Korzystając z przywileju recenzenta chciałbym poprosić Doktorantkę o rozwinięcie (w trakcie obrony pracy) stwierdzenia (s. 14) cyt. (...) *różnice w wytycznych żywieniowych wskazują na niedostateczną wiedzę na temat suplementacji diety [indyków] w aminokwasy* (...), w kontekście ogólnych wymagań pokarmowych tych zwierząt oraz interakcji pomiędzy poszczególnymi składnikami diety.

KONKLUZJA

Rozprawę doktorską pt. *Wpływ różnych proporcji lizyny, argininy i metioniny w diecie na metabolizm oraz wyniki produkcyjne indyków*, oceniam wysoko. Podjęty przez Doktorantkę temat jest istotny, zarówno z poznawczego jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Założenia metodyczne, wykorzystane techniki eksperymentalne, metody analiz laboratoryjnych i obliczeń statystycznych, umożliwiły uzyskanie wiarygodnych wyników. Wysoko oceniam również poprawność prowadzenia dyskusji w oparciu o aktualne, światowe piśmiennictwo i umiejętność wnioskowania. Stwierdzam, że praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej, posiadają istotną wartość naukową i stanowią wkład Doktorantki w rozwój dyscypliny naukowej zootechnika i rybactwo.

WNIOSEK KOŃCOWY

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr inż. lek. wet. Zuzanny Całyniuk pt. *Wpływ różnych proporcji lizyny, argininy i metioniny w diecie na metabolizm oraz wyniki produkcyjne indyków*, spełnia wymagania określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.) i może być podstawą do nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Szczecin, dnia 30 kwietnia 2024 roku

