

Warszawa, 31.03.2025 r.

dr hab. Andrzej Łozicki, prof. SGGW
Katedra Hodowli i Żywienia Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Szulc

pt.: „Poziom produkcji metanu oraz stopień biouwodorowania nienasyconych kwasów tłuszczowych w żywcu jagniąt otrzymujących dodatki nośników biologicznie aktywnych substancji”

wykonanej pod opieką prof. dr hab. Adama Cieślaka z Katedry Żywienia Zwierząt, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Ocenę rozprawy doktorskiej wykonano na podstawie uchwały Rady Naukowej Dyscypliny *Zootechnika i rybactwo* Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

1. Sylwetka Doktorantki

Mgr Paulina Szulc uzyskała tytuł magistra 04.07.2017 r. na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Kandydatka nie ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora.

Obecnie zatrudniona jest w BGW Sp. z o.o. na stanowisku: naukowiec ds. biologii molekularnej.

2. Problem naukowy i znaczenie badań rozprawy doktorskiej

Problem badawczy pracy doktorskiej koncentruje się na ocenie potencjału naturalnych dodatków paszowych - mieszanek ziołowych oraz pasz, w tym wypadku kiszonka z liści paulowni, będących nośnikami substancji biologicznie aktywnych, w modulowaniu procesów fermentacyjnych w żywcu jagniąt. W przypadku zastosowanych nośników, charakteryzowały się one wysoką zawartością związków fenolowych oraz flawonoidów.

Celem badań było określenie czy i w jaki sposób badane komponenty dawki, poprzez zawarte w nich substancje biologicznie aktywne, wpływają na redukcję emisji metanu i ograniczenie stopnia biouwodorowania nienasyconych kwasów tłuszczowych w żywcu jagniąt. Badania służą optymalizacji strategii żywieniowych mających zmniejszyć negatywny wpływ produkcji zwierzęcej na środowisko, jednocześnie poprawiając jakość produktów pochodzenia zwierzęcego.

Należy zaznaczyć, że innym bardzo ważnym zagadnieniem, które chociaż nie jest przedmiotem rozprawy, ale wybrzmiewa w badaniach których częścią jest oceniana praca, jest poszukiwanie skutecznych, naturalnych farmaceutyków weterynaryjnych o działaniu

antypasożytniczym. Zatem badania Doktorantki wpisują się w szerszy kontekst poszukiwania mechanizmów, które oddziałują korzystnie na różnych poziomach, co czyni je wartościowymi.

Znaczenie tych badań dla praktyki jest wielorakie. Po pierwsze, mogą one przyczynić się do opracowania strategii żywieniowych, które służą redukcji emisji metanu, co jest istotne w kontekście zmian klimatycznych. Po drugie, badania te mogą wskazać możliwości poprawy wartości odżywczej mięsa jagniąt i ogólnie przeżuwaczy, poprzez korzystną zmianę profilu kwasów tłuszczowych. Wreszcie, poszukiwanie naturalnych dodatków paszowych wpisuje się w trend zrównoważonej produkcji zwierzęcej, która jest coraz bardziej pożądana przez konsumentów i regulowana przez przepisy środowiskowe.

3. Ocena pracy

Przedłożona do oceny dysertacja doktorska mgr Pauliny Szulc pt. **„Poziom produkcji metanu oraz stopień biouwodorowania nienasyconych kwasów tłuszczowych w żywieniu jagniąt otrzymujących dodatki nośników biologicznie aktywnych substancji”** oparta jest na dwóch spójnych tematycznie oryginalnych pracach naukowych:

1. P. Szulc, D. Mravčáková, M. Szumacher-Strabel, Z. Váradyová, M. Várady, K. Čobanová, L. Syahrulawal, A.K. Patra, A. Cieslak. Ruminal fermentation, microbial population and lipid metabolism in gastrointestinal nematode-infected lambs fed a diet supplemented with herbal mixtures. 2020. *PLoS One*, 15(4). Impact Factor 2-letni = 3.582 Impact Factor 5-letni = 3.272 liczba punktów MNiSW = 100

2. P. Szulc, B. Nowak, M.U. Hassan, D. Lechniak, S. Ślusarczyk, J. Bocianowski, M. Szumacher-Strabel, A.K. Patra, A. Cieslak. Potential of paulownia leaves silage in lamb diet to improve ruminal fermentation and fatty acid profile – an in vitro study. 2024. *Annals of Animal Science*, 24(1). Impact Factor 2-letni = 2.527 Impact Factor 5-letni = 2.529 liczba punktów MNiSW = 140

Prace zostały opublikowane w latach 2020 i 2024 w renomowanych czasopismach o wysokim IF oraz punktacji MNiSW. Łączny 2-letni IF czasopism wynosi 6,109, zaś 5-letni 5,801, natomiast liczba punktów MNiSW to 240. Publikacje są wieloautorskie, ale jak wskazano w oświadczeniach do manuskryptu, udział Doktorantki w realizacji badań i przygotowaniu publikacji dominujący. Tematyka publikacji zapewnia spójną koncepcję pracy, w której analizowany jest wpływ nośników substancji biologicznie aktywnych – mieszanek ziołowych (publikacja 1) i kiszonki z liści paulowni (publikacja 2) na produkcję metanu i biouwodorowanie kwasów tłuszczowych.

Zbiór publikacji został opatrzony zwartym i dobrze przygotowanym opracowaniem, podzielonym na części: streszczenia w języku polskim (1 strona) i angielskim (1 strona), wstęp (11 stron), hipoteza badawcza (1 strona), cel badawczy (1 strona), materiał i metody badań (18 stron), wyniki (14 stron), dyskusja (7 stron), wnioski (1 strona), bibliografia (13 stron, obejmująca 101 pozycji) oraz spis schematów i tabel (2 strony). Dysertację uzupełniają kopie prac naukowych oraz oświadczenia współautorów dotyczące zaangażowania w przygotowanie w publikacji.

Opracowanie stanowi logicznie skonstruowaną całość, umożliwiającą ocenę spójności badań oraz sformułowanie wniosków. We wstępie Doktorantka wprowadza czytelnika w

problematykę swojej dysertacji. Chciałbym jednak zaznaczyć, że w moim odczuciu powinna wyraźniej podkreślić, iż zastosowane w I cyklu badań (publikacja 1) mieszanki ziołowe łączą oddziaływanie na przemiany zachodzące w żwaczu z działaniem antypasożytniczym.

Autorka postawiła w pracy hipotezę badawczą, że biologicznie aktywne substancje zawarte w roślinach, poprzez oddziaływanie na populacje mikroorganizmów żwacza, modulują przebieg procesów metanogenezy i biouwodorowania zachodzących w tym środowisku, przez co mogą ograniczać produkcję i emisję metanu oraz mogą wpłynąć na zwiększenie zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w produktach pochodzenia zwierzęcego.

Dla weryfikacji hipotezy Doktorantka dobrze określiła cele badań, które pokrywają się z celami i zakresem tematycznym publikacji - ocenę możliwości zastosowania naturalnych dodatków oraz pasz będących nośnikami biologicznie aktywnych substancji jako komponentów dawki pokarmowej stosowanej w żywieniu jagniąt, ze szczególnym uwzględnieniem ich wpływu na modulowanie procesów metanogenezy oraz biouwodorowania nienasyconych kwasów tłuszczowych w żwaczu w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Zakres badawczy publikacji 1 (I cykl badań) jest szerszy niż przyjęty dla dysertacji, ale wpisuje się w całość pracy, łącząc tematycznie kluczowe zagadnienia.

Przeprowadzono szeroki zakres badań *in vitro* (batch culture) oraz *in vivo* (badania na jagniętach) mających służyć realizacji określonego celu pracy. Analizie poddano między innymi wpływ dawek z czynnikami doświadczalnymi na podstawowe parametry środowiska żwacza, produkcję metanu, liczebność pierwotniaków, bakterii i metanogenów w żwaczu, liczebność bakterii biorących udział w procesie biouwodorowania, profil kwasów tłuszczowych w płynie żwacza. W badaniach *in vitro* i *in vivo* z wykorzystaniem mieszanek ziołowych (I cykl badań, publikacja 1), stosowano je w dawkach jagniąt niezainfekowanych i zainfekowanych pasożytem *Haemonchus contortus*, co zapewne wynikało ze specyfiki tych badań i analizowania działania antypasożytniczego mieszanek.

Doktorantka trafnie dobrała i szczegółowo opisała metody badawcze zastosowane w dysertacji. Wyniki zaprezentowano w przejrzystych tabelach, co ułatwia ich analizę i interpretację. Autorka umiejętnie przeprowadziła dyskusję, w interesujący sposób odnosząc się do uzyskanych rezultatów. Pracę zamyka dobrze sformułowane podsumowanie i wnioski końcowe wynikające z przeprowadzonych badań. Piśmiennictwo wykorzystane w pracy jest obszerne, dobrze dobrane tematycznie i obejmuje 101 pozycji.

Doktorantka potwierdziła, że naturalne dodatki paszowe i odpowiednio dobrane pasze mogą wspierać zrównoważoną produkcję zwierzęcą poprzez redukcję emisji metanu i poprawę jakości produktów pochodzenia zwierzęcego. Badania wykazały, że biologicznie aktywne substancje modulują procesy zachodzące w żwaczu, ale ich skuteczność zależy od rodzaju i dawki zastosowanych dodatków.

Mieszanki ziołowe (MIX 1 i MIX 2) badane w I cyklu badań (publikacja 1) wpłynęły na zmniejszenie populacji metanogenów, jednak ich wpływ na emisję metanu i profil kwasów tłuszczowych był ograniczony. Doktorantka wskazuje, że może to wynikać z niewystarczającej dawki substancji bioaktywnych w nich zawartych.

Zastosowanie w dawkach w badaniach *in vitro* kiszonki z liści paulowni wpłynęło na ograniczenie populacji metanogenów i obniżyło emisję metanu. Efekt ten Doktorantka przypisuje występującym w kiszonce polifenolom i flawonoidom, w tym obecnym w większych ilościach luteolinie i acetozidowi, które wykazują zdolność oddziaływania na mikroflorę żwacza. Doktorantka podkreśla, że uzyskane wyniki potwierdzają skuteczność biologicznie aktywnych substancji w modulacji procesów fermentacyjnych w żwaczu.

W grupach z udziałem kiszonki z liści paulowni stwierdzono również w płynie żwacza zwiększony poziom wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA). Dowodzi to, że związki bioaktywne w niej zawarte modulują procesy biouwodorowania kwasów tłuszczowych, co może wynikać z hamowania aktywności mikroorganizmów odpowiedzialnych za nasycanie wiązań nienasyconych w kwasach tłuszczowych.

Podsumowując, zarówno same publikacje, jak i przygotowaną na ich podstawie rozprawę doktorską oceniam wysoko. Poszerzają one naszą wiedzę na temat możliwości modulowania procesów metanogenezy oraz biouwodorowania nienasyconych kwasów tłuszczowych w żwaczu poprzez zabiegi żywieniowe. Dużą wartością badań jest również to, iż ich wyniki mogą być wykorzystane w praktycznym żywieniu zwierząt, odpowiadając na problemy i wyzwania współczesnego rolnictwa.

Chciałbym jednak zwrócić uwagę na pewne elementy, które moim zdaniem powinny mocniej wybrzmieć w dysertacji oraz na pewne nieścisłości, które się w niej pojawiają:

1. Tak, jak już zaznaczyłem wcześniej, we wstępie dysertacji moim zdaniem Doktorantka zbyt słabo podkreśla, że mieszanki ziołowe stosowane w I cyklu badań (publikacja 1) były również badane pod kątem ich działania antypasożytniczego, a ich badania pod kątem wpływu na metanogenezę i biouwodorowanie w żwaczu są równoległym kierunkiem badań. Ten element mocniej wybrzmiewa w publikacji. W moim odczuciu dużą wartością tych badań jest kompleksowe podejście do badanych zagadnień i to powinno mocniej wybrzmieć w opracowanej dysertacji, szczególnie we wstępie i celach badań.

2. W streszczeniu, a następnie w opisie metodyki badań *in vivo* I cyklu badań (publikacja 1), Autorka podaje, że badania przeprowadzono na 4 grupach owiec, z których jedna była grupą kontrolną niezainfekowaną pasożytami, druga grupa również otrzymywała dawkę kontrolną, ale była zainfekowana pasożytami, wreszcie dwie grupy otrzymywały doświadczalne mieszanki ziołowe (MIX 1 i MIX 2) i były to grupy niezainfekowane pasożytami. Taki układ doświadczenia na etapie czytania metodyki badań czytelnikowi wydaje się niezrozumiały. Jednak w opisie wyników i zamieszczonej publikacji wątpliwości zostają rozwiane i obie grupy przedstawione są jako zainfekowane pasożytami. Zwracam zatem uwagę na zaistniałą pomyłkę w streszczeniu i metodyce badań.

3. Rodzi się pytanie, czy w metodyce przedstawianej w dysertacji należy opisywać te parametry, które choć są omawiane w publikacji (publikacja 1- I cykl badań), to jednak nie są prezentowane i omawiane w pracy? Na przykład na stronie 35, w części metodyki opisującej oznaczanie długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, Doktorantka podaje, że kwasy te były oznaczane w

płynie żwacza, surowicy, wątrobie, mięsie. W dysertacji prezentowana jest tylko zawartość tych kwasów w płynie żwacza.

Ponadto, na początku rozdziału „Materiał i metody” Autorka wskazuje, że pobrano próbki płynu żwacza i mięsa, ale szczegółowe prezentowane i opisywane wyniki odnoszą się wyłącznie do płynu żwacza.

4. W tabeli 5 zamieszczonej w metodyce badań Autorka prezentuje podstawowy skład chemiczny i profil kwasów tłuszczowych w komponentach dawki i mieszankach zielonych stosowanych w I cyklu badań (publikacja 1). Zwraca uwagę bardzo wysoką zawartość włókna NDF w sianie łąkowym w porównaniu do pozostałych komponentów, w tym mieszanek zielonych. W przypadku siana, nawet bez uwzględnienia tłuszczu surowego, suma białka ogólnego, NDF i popiołu surowego przekracza 1000 g.

Czy wprowadzenie do dawek dla jagniąt po 100g ziół, które zawierały mniej włókna NDF niż siano, a w przypadku mieszanki zielonej MIX 2 więcej białka, mogło mieć wpływ na przemiany żwaczowe, już pomijając efekt związków biologicznie czynnych obecnych w tych mieszankach?

5. We wniosku z I cyklu badań (publikacja 1) Doktorantka stwierdziła ograniczony wpływ stosowanych mieszanek zielonych na redukcję emisji metanu oraz zmiany w profilu kwasów tłuszczowych. Jako możliwą przyczynę tego wskazuje zbyt niską dawkę substancji bioaktywnych w tych mieszankach oraz ich niewystarczający wpływ na mikroorganizmy żwaczowe. Interesuje mnie, jakie kryteria zostały przyjęte przy określaniu składu i dawki tych mieszanek zielonych.

6. W tabeli 7 prezentującej podstawowy skład chemiczny i profil kwasów tłuszczowych w komponentach paszowych stosowanych w II cyklu badań (publikacja 2) moim zdaniem nieprecyzyjnie opisana jest zawartość suchej masy w tych komponentach. W moim odczuciu byłoby bardziej czytelne gdyby Doktorantka używała określeń: zawartość suchej masy w materiale świeżym, zawartość suchej masy w materiale powietrznie suchym.

W tejże tabeli Autorka pisze „skład chemiczny paulowni, g/kg SM” podczas gdy dotyczy to składu chemicznego wszystkich komponentów. Wśród analizowanych składników wymieniony jest popiół surowy, ale prezentowane wartości dotyczą włókna surowego, tak są przedstawione w tabeli w publikacji. W przypadku kiszonki z lucerny i kiszonki z liści paulowni podawana zawartość masy organicznej jest równa zawartości suchej masy, co jest zastanawiające biorąc pod uwagę, że w komponentach tych występuje również wysoka zawartość popiołu surowego.

7. W tabeli 7 Autorka używa określenia koncentrat, co zapewne wynika z tłumaczenia, natomiast w tabeli 8 pasza treściwa – dobrze byłoby ujednolicić stosowane określenia.

8. W badaniach *in vitro* z wykorzystaniem kiszonki z liści paulowni stwierdzono między innymi wzrost strawności suchej masy wraz ze wzrostem udziału kiszonki z paulowni w dawkach oraz zmniejszenie produkcji metanu. Czy Pani zdaniem mogło to również wynikać z mniejszej zawartości włókna w kiszonce z liści paulowni w porównaniu do kiszonki z lucerny?

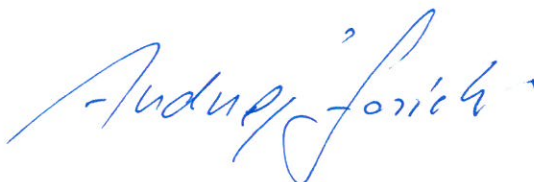
Pomijając już ocenę pracy, ciekawi mnie również:

1. Jak wyglądała/wygląda procedura zbioru liści paulowni i jak to się robi na większą skalę?
2. Jak Pani ocenia możliwości wykorzystania paszy ze świeżych, suszonych czy kiszonych liści paulowni w żywieniu zwierząt na szerszą skalę w naszym kraju?

4. Podsumowanie

Rozprawę doktorską Pani mgr Pauliny Szulc oceniam wysoko. Podjęty temat ma istotne znaczenie zarówno z naukowego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Przyjęta metodyka doświadczeń, zastosowane techniki badawcze, metody analiz laboratoryjnych oraz obliczeń statystycznych pozwoliły na uzyskanie wiarygodnych wyników. Wysoko oceniam również klarowność opisu wyników oraz poprawność przeprowadzonej dyskusji i wnioskowania.

Stwierdzam, że przedstawiona rozprawa spełnia wymogi określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn. Zm.). W związku z tym zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.



Dr hab. Andrzej Łozicki, prof. SGGW

Szkoła Główna
Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie

Instytut Nauk o
Zwierzętach

ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
+48 22 59 365 10
inz@sggw.edu.pl
www.sggw.pl