

Prof. dr hab. Stefania Smulikowska
Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt
im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk
w Jabłonie

Ocena

rozprawy doktorskiej lek. wet. Mohameda Nabila Alloui

**pt.: OKREŚLENIE PROBIOTYCZNYCH WŁAŚCIWOŚCI LAKTOZY SERWATKOWEJ W
MIESZANKACH PASZOWYCH DLA KURCZĄT RZEŹNYCH**

**(DETERMINATION OF PREBIOTIC PROPERTIES OF WHEY LACTOSE IN BROILER CHICKEN
DIETS)**

**wykonanej pod kierunkiem dr hab. Witolda Szczurka, przedstawionej Radzie
Naukowej Instytutu Zootechniki – Państwowego Instytutu Badawczego w Krakowie-
Balicach**

Przedmiotem oceny jest rozprawa doktorska dotycząca określenia prebiotycznych właściwości laktozy serwatkowej oraz praktycznych aspektów wykorzystania suszonej serwatki jako dodatku poprawiającego efektywność stosowania preparatu probiotycznego – bakterii fermentacji mlekowej (LAB) w żywieniu kurcząt brojlerów. Zagadnienie to jest bardzo aktualne, gdyż zakaz stosowania antybiotyków paszowych w żywieniu zwierząt gospodarskich wprowadzony w Unii Europejskiej od 2006 roku spowodował konieczność znalezienia innych dodatków paszowych spełniających rolę stabilizatorów mikroflory przewodu pokarmowego i zabezpieczających zwierzęta przed inwazją patogenów. Z tego względu uważam podjęcie przez Autora tego typu badań za bardzo wartościowe ze względów poznawczych i aplikacyjnych.

Układ pracy jest zgodny z wymaganiami stawianymi rozprawom doktorskim. Oceniana rozprawa została przedstawiona w zwięzłym maszynopisie, napisanym w języku angielskim. Maszynopis liczy łącznie 130 stron, w tym 27 stron stanowią wstęp i przegląd piśmiennictwa, 16 stron opis materiałów i procedur oraz 15 stron omówienie wyników badań własnych, udokumentowanych w 23 tabelach. Praca zawiera także streszczenie w języku polskim i angielskim. Wykaz piśmiennictwa liczy 329 pozycji i zajmuje 20 stron maszynopisu, znaczna część pozycji pochodzi z okresu ostatnich 10-15 lat, co świadczy o wpisaniu się Autora w nurt nauki światowej, tym niemniej liczba cytowanych publikacji wydaje się nadmierna.

Doktorant wykonał 2 doświadczenia żywieniowe na kurczętach brojlerach Ross 308 obu płci. Płeć kurcząt była określona w 1 dniu życia i równa liczba kurek i kogutków była przydzielana do grup stanowiących powtórzenia i utrzymywanych w klatkach (doświadczenie 1) lub w kojcach ściółkowych (doświadczenie 2). Podawanie diet doświadczalnych rozpoczynano od 8 dnia życia kurcząt co uważam za prawidłowe postępowanie w doświadczeniach żywieniowych, w których stosowane są pasze lub dodatki paszowe mogące zakłócać funkcjonowanie przewodu pokarmowego.

W doświadczeniu 1 ptakom podawano diety bez dodatku, lub z dodatkiem 1, 2 lub 3% laktozy pochodzącej z suszonej serwatki w okresie od 8-21 dnia życia, po czym do końca odchowu podawano dietę kontrolną, lub diety z dodatkiem 1, 2 lub 3% laktozy z suszonej serwatki podawano w całym okresie odchowu od 8 do 42 dnia życia. W każdej grupie doświadczalnej było 10 powtórzeń. Oceniano wpływ stosowanych diet na wyniki odchowu i wilgotność odchodów (ocena wizualna przez 6-osobowy panel oceniający) w 14 i 35 dniu życia. W 21 dniu życia po 8 kurcząt z grupy ubito i przeprowadzono pomiary pH treści jelita ślepego oraz jego masy i długości, pobrano i zamrożono treść do pomiarów krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. W 42 dniu życia po zakończeniu doświadczenia wzrostowego po 4 kurki i 4 kogutki z grupy kontrolnej i z grup otrzymujących laktozę ubito, przeprowadzono pomiary pH treści jelita ślepego, jego masy i długości, pobrano także treść jelita ślepego do pomiarów bakterii kwasu mlekowego i bakterii coli. We wszystkich grupach u 8 kurcząt z grupy (4 kogutki i 4 kurki) przeprowadzono także analizę rzeźną. Wyniki porównano przy zastosowaniu odpowiednich metod statystycznych.

Za najważniejsze wyniki doświadczenia 1 uważam stwierdzenie, że skład i aktywność mikroflory przewodu pokarmowego kurcząt ulega zmianie w obecności laktozy w diecie ale wpływ ten nie utrzymuje się po jej usunięciu z diety. W doświadczeniu potwierdzono także doniesienia innych autorów, że w miarę zwiększania zawartości laktozy w diecie zwiększa się wilgotność odchodów oraz masa i długość jelit ślepych. Stwierdzono także, że stosowanie diety z 1% i 2% dodatkiem laktozy powodowało poprawę przyrostów masy ciała i wykorzystania paszy w porównaniu z grupą kontrolną, a dodatek 3% laktozy zwiększał wilgotność odchodów i pogarszał przyrost masy ciała i wykorzystanie paszy.

Wyniki otrzymane w doświadczeniu 1 wykorzystano przy planowaniu doświadczenia 2, chociaż nie jest jasne dlaczego wybrano 2% poziom dodatku laktozy w diecie. Ptakom podawano 4 diety: 1/ kontrolną bez dodatków, 2/ dietę z dodatkiem 2% laktozy pochodzącej z suszonej serwatki, 3/ dietę kontrolną z dodatkiem probiotyku, 4/ dietę z dodatkiem 2% laktozy pochodzącej z suszonej serwatki oraz z dodatkiem probiotyku. W każdej grupie doświadczalnej były 4 powtórzenia. Diety podawano w okresie od 8 do 42 dnia życia. W 15 dniu życia część kurcząt na 2 dni przeniesiono do klatek i oceniano wilgotność odchodów metodą oceny wizualnej tak jak w doświadczeniu 1, ale odchody zebrano i oznaczono w nich zawartość suchej masy. Po zakończeniu doświadczenia wzrostowego w 42 dniu życia po 6 kurek i 6 kogutków z grup doświadczalnych ubito, pobrano krew do oznaczeń biochemicznych, przeprowadzono pomiary pH treści oraz masy i długości poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego, od 6 kurcząt z grupy pobrano także treść jelita ślepego do pomiarów lotnych kwasów tłuszczowych. W następnym dniu we wszystkich grupach po 6 kurek i 6 kogutków z grup doświadczalnych ubito, przeprowadzono analizę rzeźną i pobrano kości udowe do oznaczeń wytrzymałości na złamanie i zawartości popiołu. Ubito także po 20 kurcząt z grupy i przygotowano po 5 pulowanych próbek treści jelit ślepych do oznaczeń mikroflory metodą fluoryzacyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH).

Za bardzo wartościowe uważam wyniki pomiarów składu mikroflory jelita ślepego metodą FISH, które pozwoliły stwierdzić, że zarówno dodatek laktozy jak i użytego probiotyku powodowały zmniejszenie liczebności bakterii *Enterobacteriaceae* i *Clostridium perfringens* w porównaniu z grupą kontrolną. Liczebność tych bakterii była najmniejsza w grupie otrzymującej oba dodatki, co dowodzi, że laktoza może być traktowana jako prebiotyk dla zastosowanego probiotyku.

Dysertacja jest efektem pracochłonnych metod biologicznych i licznych pomiarów analitycznych. Zastosowane metody statystyczne nie budzą zastrzeżeń. Z obowiązku

recenzenta pragnę jednak zwrócić uwagę na drobne niedociągnięcia, oraz przedstawić moje wątpliwości i uwagi, oczekując od Autora stosownych wyjaśnień.

1/ Ocena wilgotności odchodów metodą oceny wizualnej jest obarczona większym błędem niż metoda pomiaru zawartości suchej masy. W doświadczeniu 1 zastosowano jedynie tą pierwszą, w doświadczeniu 2 obie metody, co uważam za bardziej wiarygodne.

2/ Stosowanie w doświadczeniu 1 metody hodowli bakterii z treści jelita ślepego metodą konwencjonalną w warunkach tlenowych nie pozwalało na prawidłową ocenę dominującej w jelicie ślepym drobiu mikroflory beztlenowej. W doświadczeniu 2 zastosowano metodę FISH, która daje bardziej wiarygodne wyniki.

3/ W doświadczeniu 1 przeliczano masę wątroby, żołądka i tłuszczu sadełkowego w stosunku do masy tuszki po schłodzeniu (str. 53 i Tabela 9), w doświadczeniu 2 w stosunku do masy ciała przed ubojem (str. 62 i tabela 15) wskutek czego otrzymane wyniki są nieporównywalne. Ogólnie używany jest sposób przeliczania zastosowany w doświadczeniu 2.

4/ W doświadczeniu 1 poprawa wyników odchowu była podobna przy podawaniu diet z dodatkiem 1% i 2% laktozy, podczas gdy 3% dodatek powodował ich pogorszenie w porównaniu z wynikami grupy kontrolnej. Dodatek 2% laktozy zwiększał jednak wilgotność odchodów w porównaniu do grup otrzymujących 1% laktozy w diecie. W pracy nie znalazłam uzasadnienia dlaczego do doświadczenia 2 wybrano jednak 2% dodatek laktozy.

5/ W doświadczeniu 2 w 42 i w 43 dniu życia wybierano do uboju po 6 kogutków i 6 kurek z grupy na podstawie drugorzędowych cech płciowych (str. 61). Czy potwierdzano płeć ptaków na podstawie oglądu gonad po uboju?

6/ Liczba powtórzeń z grupy dla różnych pomiarów w obu doświadczeniach była zmienna. W tabelach nie podano jednak wartości n dla poszczególnych pomiarów, co zmusza czytającego do żmudnego poszukiwania odpowiednich wartości w części metodycznej pracy.

Wyżej przedstawione uwagi i wątpliwości, które powinny być wyjaśnione w trakcie publicznej obrony nie zmieniają mojej oceny pracy którą uważam za bardzo wartościową pod względem poznawczym i aplikacyjnym. Autor zastosował wiele pracochłonnych metod biologicznych i nowoczesnych metod analitycznych. Wyniki przedstawił w starannie opracowanych tabelach, dobrze opracował i zinterpretował zebrany materiał liczbowy. W dyskusji wykazał się znajomością problematyki żywienia drobiu i umiejętnością interpretacji wyników własnych na tle literatury światowej. Wnioski dotyczące prebiotycznych efektów laktozy i jej działania jako promotora wzrostu oraz działania zastosowanego probiotyku są dobrze uzasadnione.

Reasumując stwierdzam, że oceniana praca w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim określonym w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65. Z 2003 r., poz. 595 z późniejszymi zmianami). Dlatego też z pełnym przekonaniem przedstawiam Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Zootechniki – Państwowego Instytutu Badawczego w Krakowie-Balicach wniosek o dopuszczenie Pana lek. wet. Mohameda Nabila Alloui do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 1.12.2015 roku


prof. dr hab. Stefania Smulikowska