

Lublin, dn. 27 października 2024 r.

Prof. dr hab. Justyna Batkowska
Zakład Doskonalenia Zwierząt i Drobiarstwa
Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Rafała Zwierzyńskiego pt. „Wpływ witaminy C i E podanej *in ovo* na wskaźniki wylęgowości i użytkowości gęsi” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Ewy Gornowicz oraz dr inż. Lidii Lewko Zakładzie Doświadczalnym Kołuda Wielka Instytutu Zootechniki PIB

Recenzję wykonano na zlecenie dr inż. Tomasza Jacka, Dyrektora Instytutu Zootechniki – Państwowego Instytutu Badawczego (pismo z dn. 24 sierpnia 2024 r.), zgodnie z wymogami określonymi w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017, poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 ust. 2 oraz ust. 3 pkt 2b Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.).

Opis i ocena formalna pracy

Rozprawę doktorską przygotowano pod opieką promotora oraz promotora pomocniczego, zaś sposób jej przygotowania umożliwia właściwą i pełną ocenę oraz zapoznanie się z istotą samej dysertacji. Ma ona formę maszynopisu książki w języku polskim i jest opatrzona streszczeniem w języku angielskim

Oceniana rozprawa doktorska zawiera stronę tytułową, **spis treści** i wykaz wykorzystanych w pracy skrótów literowych, **wstęp** (8 stron), hipotezę badawczą oraz **cel pracy**. **Materiał badawczy i metodykę badań** opisano na 9 stronach zaopatrując ją w stosowną dokumentację fotograficzną. Główne **wyniki** prac doświadczalnych omówiono na 40 stronach, po których zamieszczono **dyskusję** (12 stron) oraz **7 wniosków** wraz z ich praktycznymi implikacjami. Kolejne części dysertacji stanowią **spis 28 tabel, spis rysunków i fotografii**, wykaz zacytowanego **piśmiennictwa** i **streszczenia** polsko- i anglojęzyczne.

Zacytowane w dysertacji 138 pozycji piśmiennictwa w tym 5 odniesień do stron internetowych, które jednak należało zaopatrzyć w daty dostępu. Pozostałe prace to w ponad 90%-ach prace anglojęzyczne opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Zostały one dobrane właściwie do podjętego tematu i prawidłowo wykorzystane w tekście pracy. Sumarycznie przesłany do oceny maszynopis liczy 94 strony.

Wstęp jest napisany zrozumiałym i dość precyzyjnym językiem i pokazuje, że Doktorant potrafi sprawnie posługiwać się piśmiennictwem obcojęzycznym oraz konstruować poprawny tekst naukowy, motywując obrany kierunek badań. Postawiono

prawidłową **hipotezę badawczą**, a na jej podstawie sprecyzowano **cel pracy**. Dość szczegółowo opisano **materiał badawczy** wraz ze zbiorczym, tabelarycznym przedstawieniem układu doświadczalnego. Następnie zaprezentowano zastosowane **metody badawcze** uwzględniając technikę iniekcji *in ovo*, chów i ubój ptaków, sposoby szacowania poszczególnych wskaźników oraz statystyczną analizę zebranych danych.

Wyniki badań Doktorant zaprezentował w podziale na rodzaj oznaczanych cech, tj. wpływ iniekcji witaminy C i E na wskaźniki wylęgowości gęsi, niestety bez ścisłego porównania obu substancji, następnie na wybrane parametry użytkowości i wskaźniki wartości rzeźnej ptaków. Same wyniki liczbowe przedstawiono w formie tabelarycznej, omówiono je w sposób prawidłowy z wykorzystaniem słownictwa specjalistycznego, właściwego dla dyscypliny naukowej. Doktorant opisał istotne statystycznie różnice wynikające z zastosowania czynników doświadczalnych. Same wyniki badań należy uznać za ważne z aplikacyjnego punktu widzenia, ale także innowacyjne ze względu na specyficzny dobór materiału badawczego. Jednocześnie potwierdzone zostały obserwacje poczynione uprzednio na drobiu grzebiącym, wskazującym na intensywniejszą reakcję ptaków o doskonalonych genotypach niż o genotypach pierwotnych na czynniki stosowane w kontekście stymulacji rozwoju embrionalnego i późniejszego potencjału wzrostowego.

We **wnioskach** podsumowano uzyskane wyniki. Wykazano, że genotyp gęsi jest najważniejszym czynnikiem kształtującym ich parametry wylęgowości, wskaźniki użytkowości i wartości rzeźnej. W tym zakresie sprecyzowano również zróżnicowane, ale pozytywne działanie witaminy C w zależności od dawki i czasu iniekcji, także tę witaminę uznano efektywniejszą niż witaminę E w kontekście jej oddziaływania na wybrane wskaźniki odchowu gęsi, szczególnie gdy była podawana do jaja w 20-tym dniu inkubacji. Doktorant stwierdza ponadto, że uzyskane wyniki potwierdzają dane z dostępnego piśmiennictwa, że uzupełnienie witaminy C w okresie rozwoju embrionalnego ma zasadnicze znaczenie na późniejsze efekty wylęgu i odchowu ptaków. Najbardziej wrażliwe na niedobór tej witaminy są komercyjne wysokoprodukcyjne rasy/linie drobiu. Jednocześnie wskazano, że nastrzykiwanie *in ovo* może być skuteczną i opłacalną metodą poprawy wylęgu i wartości rzeźnej gęsi, aczkolwiek ten wniosek jest chyba nieco zbyt daleko idący bo o ile technologia produkcji drobiu grzebiącego (kurcząt broilerów) jest bardzo zaawansowana co pozwoliło na jej znaczną mechanizację, o tyle chów gęsi wciąż jest bliższy systemom ekstensywnym. Poza tym w pracy nie oszacowano ekonomiki zastosowanych zabiegów.

Problem naukowy i znaczenie badań

W strukturze produkowanego żywca drobiowego udział gęsi nie jest wysoki, ale od kilku lat obserwuje się tendencję wzrostową produkcji ptactwa wodnego, zarówno w kontekście rynku krajowego, jak i w ujęciu globalnym. Polska jest obecnie jednym z największych producentów gęsi w Europie. Swoista intensyfikacja genotypu i potencjału wzrostowego dotknęła także tego gatunku ptaków, a w związku ze zwiększającym się zapotrzebowaniem europejskich konsumentów na polską gęś owsianą pożądaną są takie rasy/odmiany tych ptaków, która spełniają wymagania współczesnego rynku. W te relacje

popytu i podaży wpisuje się najbardziej rozpowszechniona w Polsce gęś biała Kołudzka. Ptaki te znakomicie przystosowały się do naszych warunków środowiskowych, potrafią efektywnie wykorzystywać składniki pokarmowe zawarte w paszach, zaś żywienie w oparciu o pasze pochodzenia roślinnego kształtuje wyjątkowy smak gęsiny.

Gęś biała Kołudzka stanowi obecnie ok. 95% krajowego pogłowia, zaś pozostałe 5% to stada odmian rodzimych oraz stada pochodzenia zagranicznego objęte programem ochrony zasobów genetycznych. Reprezentują one genotypy niejednokrotnie unikatowe w skali światowej, a jednocześnie zakorzenione w polskiej tradycji i kulturze, stanowiące nieodłączny element krajobrazu rolniczego. Charakteryzuje je doskonałe przystosowanie do lokalnych warunków klimatycznych i środowiskowych, dobra zdrowotność, odporność na niekontrolowane warunki chowu. Populacje te są unikalną pulą genową. Fakt odmienności genotypów doskonalonych na drodze selekcji od ptaków utrzymywanych *in situ*, z zachowaniem wyłącznie kontroli pochodzenia celem ograniczenia inbrodu, przekłada się także na ich fizjologię oraz reakcje organizmu na oddziałujące bodźce, żywieniowe i środowiskowe na każdym etapie życia ptaków, w tym w okresie rozwoju embrionalnego.

Głównym celem każdej wylęgarni jest uzyskanie zadowalającej wylęgowości oraz wysokiej jakości piskląt. Ze względu na fakt, że to właśnie jakość piskląt rzutuje na późniejsze wyniki produkcyjne i ekonomikę chowu, praca w kierunku zapewnienia optymalnej jakości piskląt dotyczy wszystkich etapów ich pozyskiwania i obejmuje żywienie i profilaktykę stada rodzicielskiego, zbiór i magazynowanie jaj wylęgowych, parametry inkubacji niezależnie od jej fazy, a także stymulację rozwoju zarodkowego substancjami podawanymi przy pomocy techniki *in ovo*. Polega ona na podawaniu substancji bezpośrednio do jaja z rozwijającym się zarodkiem, przy czym miejsce iniekcji, zależne od wieku zarodka, może być różne. Najczęściej jest to komora powietrzna, woreczek żółtkowy, omocznia, owodnia lub błona kosmówkowa.

Zagadnienie to nie stanowi *novum* w kontekście drobiu grzebiącego, od lat stosuje się szczepienia lub dożywianie ptaków (aminokwasy, witaminy, makro- i mikroelementy) na etapie zaawansowanej embriogenezy. Innowacją natomiast, w kontekście ocenianej rozprawy doktorskiej, jest wykorzystanie techniki *in ovo* w przypadku jaj wylęgowych gęsi. W ocenianej pracy czynniki doświadczalne wybrano właściwie, z uwagi na ich popularność, ale także potwierdzoną skuteczność działania u drobiu grzebiącego. Podana do jaja witamina E może przyczyniać się do poprawy wylęgowości, a dalej odporności piskląt. Obserwuje się także skrócenie „okna klucia”, zwiększenie masy ciała i rozmiarów ciała (długości) pisklęcia oraz stymulację rozwoju przewodu pokarmowego (zwiększenie powierzchni wchłaniania). Poprawą wylęgowości, ale również poprawą zdolności antyoksydacyjnych i odporności humoralnej kurcząt może skutkować iniekcja witaminy C. Tu dodatkowym obserwowanym efektem jest ekspresja genów białka kinazy dehydrogenazy pirogronianowej (PDK4) odpowiedzialnego za zmniejszenie metabolicznej produkcji ciepła, przez co może niwelować zagrożenia związane ze stresem cieplnym zarodków kurzych, podobnie jak to ma miejsce u ptaków odchowywanych w warunkach podniesionej temperatury otoczenia (letnie cykle produkcyjne). Iniekcja kwasu L-askorbinowego może poprawić zdolność antyoksydacyjną osocza, rozwój mięśni nóg oraz przyrosty masy ciała kurcząt.

W pracy postawiono **hipotezę**, że iniekcja *in ovo* witamin C i E wpłynie na polepszenie ekonomicznych wyników wylęgu poprzez zmniejszenie ilości zamartwych zarodków i kalekich piskląt oraz wskaźników użytkowości i wartości rzeźnej, bazując na poprawie zdrowotności pozyskanych gąsiąt. Zaplanowano doświadczenie mające na celu określenie wpływu iniekcji *in ovo* różnych dawek witaminy C i E, w określonych terminach okresu embriogenezy wybranych trzech ras/rodów gęsi na kształtowanie wskaźników wylęgowości, użytkowości i wartości rzeźnej tych ptaków. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki należy stwierdzić, że hipotezę potwierdzono, a cel pracy prawidłowo zrealizowano.

Uwagi i komentarze

Uważam, że rozprawa przedstawiona do oceny jako praca doktorska Pana mgr inż. Rafała Zwierzyńskiego stanowi oryginalny wkład w dyscyplinę zootechniki i rybactwo. Wykonanie badań wymagało od Doktoranta dużego zaangażowania i wkładu pracy, współpracy z innymi członkami zespołu badawczego oraz dobrej znajomości procedur hodowlanych, a także technik i metod laboratoryjnych. Jednak, mimo, że jestem pod pozytywnym jej wrażeniem z obowiązku recenzenta proszę o odniesienie się do poniższych pytań i uwag (pomijam drobne błędy interpunkcyjne i redakcyjne):

- Dlaczego wybrano akurat te rasy/odmiany gęsi krajowych?
- Czy badanie uzyskało zgodę właściwej Komisji Etycznej ds. Badań na Zwierzętach?
- Na stronie 23 wspomniano o seksowaniu piskląt po wykluciu, skoro tak to dlaczego nie przedstawiono wyników produkcyjnych w podziale na płeć?
- Czy i w jaki sposób oceniano jakość wylężonych piskląt?
- Nie określono, w którym sezonie użytkowania ptaków wykonano badania.
- Tabele 5, 8, 11, 14, 19, 24: w tych tabelach zamieszczono istotność wpływu poszczególnych analizowanych czynników doświadczalnych na badane cechy gęsi. Opisany w rozdziale „Materiał i metody” model statystyczny nie znajduje odzwierciedlenia w zaprezentowanych wynikach. Zdeklarowano model 4-czynnikowy (układ eksperymentalny, str. 27), zatem analiza wyników powinna uwzględniać wszystkie czynniki główne (pochodzenie ptaków, rodzaj witaminy, dawka witaminy, czas wykonania iniekcji) wraz ze wszystkimi możliwymi interakcjami pomiędzy nimi. Tymczasem wszystkie dane analizowano wyłącznie w układzie dwuczynnikowym brakuje zatem zgodności opisu metodycznego z prezentowanymi wynikami. Na stronie 73 wspomniano analizę wariancji dla 3 czynników, ale nie zaprezentowano jej w pracy.
- Wstęp: We wstępie pojawiają się pochodzące z cytowanych prac skróty, które wymagają wyjaśnienia. Pewne stwierdzenia motywujące cel podjętych badań stanowią w zasadzie ich recenzję, zatem nie powinny się znaleźć (str. 18, ostatni akapit). Na tej samej stronie znajduje się zdanie o bioróżnorodności, które chyba powinno brzmieć: Bioróżnorodność sprawia, że gęsi zdają się być interesującym materiałem badawczym.

- Cel pracy: może „krajowych ras/odmian gęsi... Pochodzenie w tym aspekcie jest mniej istotne i raczej oczywiste.
- Materiał badawczy: ...w tym samym okresie produkcji nieśnej... (str. 19) w jakim?
- Eksperymenty: (str. 21) jaka technologia jest stosowana w Kołudzie Wielkiej? Miejscami opis metodyczny jest chaotyczny. Miejsce wykonywania badań powinno być określone generalnie na początku rozdziału. Iniekcja: jaja ważono przed nakładem (str. 23), czy zatem nie byłoby słuszne (i obiektywne) określenie udziału pisklęcia w początkowej masie jaja? Ubój i ocena wartości rzeźnej gęsi: tekst sugeruje (1 akapit), że łapy były kwalifikowane jako podroby. Prawidłowym by był podanie, że należą one, obok podrobów (narządów wewnętrznych) należą one do części jadalnych tuszki i na tych samych zasadach są wprowadzane do obrotu. „Szkielet” typowo określany jest jako korpus (z szyją lub bez).
- Obliczenia statystyczne: skoro użyto testów parametrycznych należy zamieścić adnotację o weryfikacji normalności rozkładu.
- Tabela 3: pomocnym by było zamieszczenie liczby ważonych jaj. Ponadto sporządzenie podobnego jak tabela 3 zestawienia procentowego ubytku masy pozwoliłoby na bardziej obiektywne porównanie ras/odmian gęsi. W tym monocie różnice w masie jaja wynikają głównie z genotypu, ale być może różnicuje on także przepuszczalność skorupy.
- Tabela 4a: ile prób weszło do porównań ($n=?$)? Z czego wynika tak duża zmienność cech w obrębie danej grupy genetycznej (stosunek zarodków zamartych do jaj nałożonych)? Może przy tak dużej zmienności (także w tabeli 4b) należałoby analizować dane testem nieparametrycznym, a prezentować np. mediany?
- Tabela 7b: dlaczego liczonego stosunek padłych piskląt do jaj przełożonych? Te pisklęta traktowano jako pisklęta padłe (po wykluciu), czy zarodki zamarte? Być może bardziej właściwe byłoby oszacowanie stosunku tych ptaków, ale do piskląt wylężonych?
- Tabela 9: wydaje się, że ponownie w kontekście porównania uzyskanych wyników korzystniej by było pokazać przyrost masy ciała (%), zwłaszcza, że genotyp jest głównym czynnikiem różnicującym efekty produkcyjne ptaków.
- Tabele 18, 23: zaobserwowano zmniejszanie się masy bezwzględnej podrobów, jednak typowo są one prezentowane jako procent masy ciała przed ubojem, być może takie przeliczenie było by bardziej obiektywne w kontekście genotypu ptaków. Poza tym być może taka transformacja danych pozwoliłaby pokazać różnice ze względu na iniekowany czynnik.
- Na stronie 69 Doktorant omawia wielkość ubytku jaj, w domyśle ich masy. Jednak w tabelach jest podana rzeczywista masa jaj (g), a nie jej ubytek (%). Podobnie na str. 78 wspomniano udział podrobów w masie ciała ptaków, ale trudno stwierdzić słuszność takiego porównania ponieważ w pracy podroby pozostawiono w wartościach ich masy.

Podsumowując, powyższe uwagi nie umniejszają wysokiej wartości ocenianej pracy zatem pozytywnie oceniam rozprawę doktorską mgr inż. Rafała Zwierzyńskiego pt. „Wpływ witaminy C i E podanej *in ovo* na wskaźniki wylęgowości i użytkowości gęsi”. Uważam, że dysertacja ta pokazuje ogólną, szeroką wiedzę zarówno teoretyczną, jak i praktyczną Doktoranta oraz Jego umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Oceniana rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, posiada znaczące walory poznawcze, a także jest wartościowa pod względem aplikacyjnym i wnosi duży wkład w rozwój nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo. Stwierdzam zatem, że przedstawiona do oceny praca doktorska spełnia wymogi wynikające z art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017, poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 ust. 2 oraz ust. 3 pkt 2b Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.) i może być podstawą do nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo. Przedkładam zatem wniosek o dopuszczenie mgr inż. Rafała Zwierzyńskiego do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.



Prof. dr hab. Justyna Batkowska