

prof. dr hab. Anna Czech

Katedra Biochemii i Toksykologii

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin 12.05.2025

RECENZJA

pracy doktorskiej pt. **"Wpływ mączki z larw muchy *Hermetia illucens* i astaksantyny na wyniki produkcyjne, status zdrowotny oraz strukturę i funkcjonalność przewodu pokarmowego świń"**

wykonanej przez

mgr inż. Kingę Szczepanik

w Instytucie Zootechniki – Państwowego Instytutu Badawczego

pod kierunkiem

promotor - Prof. dr hab. Małgorzaty Świątkiewicz,

promotor pomocniczy - Dr hab. Piotra Dobrowolskiego, prof. UMCS

Informacje o ocenianej rozprawie doktorskiej

Okres odsadzenia stanowi jeden z najbardziej krytycznych etapów w rozwoju prosiąt, w którym zwierzęta narażone są na liczne czynniki stresogenne, zarówno żywieniowe, jak i środowiskowe. Nagła zmiana diety, niedojrzałość układu pokarmowego oraz obniżona odporność prowadzą często do zaburzeń funkcjonowania przewodu pokarmowego, objawiających się biegunkami, spadkiem przyrostów masy ciała i pogorszeniem wskaźników produkcyjnych. Jednocześnie, w obliczu ograniczeń stosowania tlenu cynku i antybiotyków, wzrasta potrzeba poszukiwania skutecznych, a zarazem bezpiecznych, alternatyw wspierających zdrowie i rozwój młodych zwierząt.

W ostatnich latach coraz większe zainteresowanie budzą dodatki paszowe pochodzenia naturalnego, wykazujące właściwości immunomodulujące, przeciwzapalne i wspierające integralność bariery jelitowej. Mączka z larw muchy *Hermetia illucens*, jako bogate źródło wysoko przyswajalnego białka, tłuszczów, chityny i bioaktywnych peptydów, może korzystnie wpływać na mikrobiotę jelitową oraz mechanizmy odpornościowe świń. Z kolei astaksantyna – naturalny karotenoid o silnych właściwościach antyoksydacyjnych – może działać ochronnie na komórki jelitowe, ograniczać stres oksydacyjny i wzmacniać funkcje barierowe nabłonka. Synergiczne działanie tych substancji stwarza potencjał dla nowoczesnych strategii żywieniowych, wspierających nie tylko zdrowie, ale i efektywność produkcji zwierzęcej.

Z tych względów przeprowadzone przez Doktorantkę badania należy uznać za w pełni

zasadne i trafnie wpisujące się w aktualne wyzwania współczesnej hodowli świń. Podejmowana tematyka ma zarówno istotny wymiar poznawczy, związany z mechanizmami oddziaływania dodatków paszowych na strukturę i funkcje przewodu pokarmowego, jak i aplikacyjny – ukierunkowany na praktyczne wykorzystanie wyników badań w produkcji zwierzęcej. Praca ta stanowi oryginalną i wartościową próbę połączenia innowacyjnych rozwiązań naukowych z realnymi potrzebami gospodarki hodowlanej.

Ocena formalna

Rozprawę doktorską stanowi spójny tematycznie cykl czterech recenzowanych oryginalnych prac twórczych opublikowanych w latach 2023-2024:

P1. **Szczepanik K.**, Furgał-Dierżuk I., Gala Ł., Świątkiewicz M. (2023). Effects of *Hermetia illucens* larvae meal and astaxanthin as feed additives on health and production indices in weaned pigs. *Animals*, 13(1), 163. <https://doi.org/10.3390/ani13010163>

MEiN₂₀₂₃ = 100 IF₂₀₂₄ = 2.7

P2. **Szczepanik K.**, Dobrowolski P., Świątkiewicz M. (2024). Effects of *Hermetia illucens* larvae meal and astaxanthin on intestinal histology and expression of tight junction proteins in weaned piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 108(6), 1820-1832. <https://doi.org/10.1111/jpn.14024>

MEiN₂₀₂₄ = 100 IF₂₀₂₄ = 2.2

P3. **Szczepanik K.**, Oczkiewicz M., Dobrowolski P., Świątkiewicz M. (2023). The protective effects of astaxanthin (AST) in the liver of weaned piglets. *Animals*, 13(20), 3268. <https://doi.org/10.3390/ani13203268>

MEiN₂₀₂₃ = 100 IF₂₀₂₄ = 2.7

P4. **Szczepanik K.**, Świątkiewicz M. (2024). *Hermetia illucens* as a source of antimicrobial peptides—a review of in vitro and in vivo studies. *Annals of Animal Science*, 24(1), 77-88. <https://doi.org/10.2478/aoas-2023-0071>

MEiN₂₀₂₄ = 140 IF₂₀₂₄ = 1.8

Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopismach z bazy JCR (Web of Science), znajdujących się w części A listy czasopism punktowanych Ministerstwa Edukacji i Nauki. Łączna wartość wskaźnika IF wszystkich publikacji wynosi 9,4, a sumaryczna liczba punktów MEiN - 440. Powyższe prace są wieloautorskie, a mgr inż. Kinga Szczepanik jest ich pierwszą autorką.

Współautorzy potwierdzili, w stosownych oświadczeniach, merytoryczny wkład mgr inż. Kingi Szczepanik, obejmujący: udział w opracowaniu metodyki badawczej, realizacji doświadczenia oraz pobieraniu próbek; wykonanie części analiz laboratoryjnych; udział w opracowaniu i interpretacji wyników, w tym w doborze odpowiednich narzędzi statystycznych; wiodącą rolę w przygotowaniu manuskryptu oraz jego współredagowaniu. W przypadku pracy P4 mgr inż. Kinga Szczepanik była również autorką koncepcji badania oraz samodzielnie



przygotowała oryginalną wersję manuskryptu.

Przedmiotowe publikacje uzupełniono anglojęzycznym tekstem liczącym 72 ponumerowane strony tekstu, składającego się z ogólnie przyjętych rozdziałów, to jest z wykazu skrótów oraz streszczenia w języku polskim i angielskim (strony 8-13); wstępu hipotezy badawczej i celu badań (strona 14-24), skróconego opisu materiału i metod badawczych strona (25-32), opisem najważniejszych wyników przeprowadzonych badań i bardzo poprawnie syntetycznie omówionych wyników (strona 33-58). W pracy zawarto również spis treści oraz podsumowanie i wnioski (strona 59-60) i bardzo obszerną bibliografię liczącą 150 pozycji literaturowych, które są bezpośrednio powiązane z tematyką ocenianej rozprawy.

Wymienione rozdziały zakończone zostały spisem tabel, wykresów i rycin. Do autoreferatu dołączono również oświadczenia dotyczące merytorycznego i procentowego udziału w publikacjach oraz odbitki całych manuskryptów.

Pod względem formalnym Autoreferat zawiera podstawowe elementy rozprawy doktorskiej. Opracowanie ma charakter naukowo-badawczy, napisane jest poprawnym naukowym językiem i formalnie odpowiada warunkom określonym dla rozpraw doktorskich zgodnie z art. 191 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Ocena merytoryczna

Od strony edytorskiej praca jest napisana bardzo dobrze. Zapoznaniem czytelnika w tematykę badawczą Doktorantka zajęła się w rozdziale 2. Rozdział ten zawiera zagadnienia dotyczące m.in. problemów związanych z okresem okołoodsadzeniowym prosiąt, zwracając szczególną uwagę na zaburzenia funkcjonowania przewodu pokarmowego, zmiany w mikrobiocie jelitowej, obniżoną odporność oraz konsekwencje tych zjawisk dla zdrowia i wyników produkcyjnych zwierząt. Autorka poświęciła wiele uwagi krajowym źródłom białka paszowego stosowanym w żywieniu zwierząt monogastrycznych, uwzględniając alternatywne wobec tradycyjnych pasz białkowych źródło białka, jakim są larwy muchy *Hermetia illucens* (HI), cechujące się wysoką zawartością dobrze przyswajalnego białka, korzystnym profilem aminokwasowym, obecnością lipidów, chityny oraz bioaktywnych związków wspierających zdrowie i funkcje przewodu pokarmowego. Autorka zwróciła również uwagę na rolę dodatków paszowych jako stymulatorów wzrostu i zdrowia prosiąt, koncentrując się przede wszystkim na czynnikach doświadczalnych, jakimi były: mączka z larw muchy *Hermetia illucens* oraz astaksantyna (AST) – silny przeciwutleniacz pozyskiwany głównie z mikroalg *Haematococcus pluvialis*, znany ze swoich właściwości przeciwzapalnych, immunomodulujących oraz wspierających integralność bariery jelitowej.

Rozdział ten stanowi merytoryczne uzasadnienie podjętej tematyki badawczej, opracowane w oparciu o literaturę ściśle związaną z omawianymi zagadnieniami. Uwzględnia aktualny stan wiedzy z zakresu żywienia i zdrowia świń, ze szczególnym uwzględnieniem trudności występujących w okresie okołoodsadzeniowym. Zawarte w nim treści dotyczą zarówno tradycyjnych, jak i alternatywnych źródeł białka paszowego, a także dodatków wspierających funkcjonowanie przewodu pokarmowego i ogólną kondycję prosiąt. Tym samym rozdział ten odzwierciedla przygotowanie teoretyczne mgr inż. Kingi Szczepanik oraz stanowi podstawę dla dalszej części pracy eksperymentalnej.

W kolejnym rozdziale Doktorantka przedstawiła hipotezy badawcze i cel pracy, koncentrując się na ocenie wpływu mączki z larw *Hermetia illucens* oraz astaksantyny na zdrowie, rozwój przewodu pokarmowego i wskaźniki produkcyjne prosiąt. Założono, że składniki te, dzięki swoim właściwościom odżywczym, prebiotycznym i przeciwutleniającym, mogą pozytywnie wpływać na organizm młodych zwierząt, a realizacja badań pozwoli zweryfikować ich przydatność w funkcjonalnym żywieniu świń.

Cel badań poprzedzono trafnie sformułowaną hipotezą badawczą, zakładającą, że mączka z larw *Hermetia illucens* oraz astaksantyna, stosowane jako dodatki paszowe — zarówno oddzielnie, jak i łącznie — mogą korzystnie wpływać na wskaźniki zdrowotne i produkcyjne prosiąt.

Wg mojej opinii hipoteza i cel badań są prawidłowo sformułowane i stanowią logiczną całość prowadzącą do zrealizowania założeń pracy.

Rozdział Materiał i metody zawiera opis istotnych elementów metodycznych doświadczenia, przeprowadzonego na prosiętach. W ramach pracy zrealizowano doświadczenie, którego celem była ocena wpływu dodatku paszowego w postaci mączki z larw *Hermetia illucens* oraz astaksantyny na wskaźniki zdrowotne i produkcyjne prosiąt. W doświadczeniu zastosowano układ grup doświadczalnych, obejmujący różne poziomy dodatku mączki HI (2,5% i 5%) oraz obecność astaksantyny. Po zakończeniu okresu odchowalni przeprowadzono kompleksowe analizy obejmujące m.in. ocenę wyników produkcyjnych, badania krwi, analizę narządów wewnętrznych, składu mięsa, parametrów jelit oraz ekspresji wybranych genów. Na szczególną uwagę zasługuje schemat przeprowadzonego doświadczenia (Ryc. 1) przedstawiony w manuskrypcie, który w sposób czytelny i logiczny przedstawia układ grup doświadczalnych, zastosowane dodatki paszowe, harmonogram pobierania próbek oraz zakres analiz laboratoryjnych. Graficzne ujęcie tych elementów nie tylko ułatwia zrozumienie przebiegu doświadczenia, ale także podkreśla jego kompleksowość i przemyślaną strukturę badawczą, jasno powiązaną z postawionymi hipotezami i celem pracy. Taka forma prezentacji stanowi cenne narzędzie wspomagające interpretację wyników i ocenę wiarygodności uzyskanych danych.

Uważam, że metodyka badań, w tym układ doświadczeń i wybór odpowiednich do testowanego materiału parametrów, a także metody analityczne, nie budzą zastrzeżeń i świadczą o dojrzałości naukowej Kandydatki.

Uzyskane wyniki zostały poprawnie i w zrozumiały sposób opisane ze zwróceniem uwagi na istotności różnic między grupami. Doktorantka zrekapitulowała również najistotniejsze rezultaty swoich badań i porównała je z badaniami innych Autorów.

Zgromadzone wyniki badań, omówione na tle dokonań innych autorów, pozwoliły mgr inż. Kindze Szczepanik na sformułowanie czterech wniosków, które – według mojej opinii – są w pełni uzasadnione, spójne z przyjętymi hipotezami badawczymi i mają istotne znaczenie poznawcze. Choć nie posiadają one jeszcze bezpośredniego znaczenia aplikacyjnego, mogą stanowić cenną podstawę do opracowania praktycznych wytycznych dotyczących optymalnego stosowania badanych dodatków paszowych w żywieniu zwierząt monogastrycznych, z uwzględnieniem ich dawki. Z uwagi na potencjał praktycznego wykorzystania uzyskanych wyników, zasadna wydaje się prośba o uzupełnienie zestawu wniosków o aspekt aplikacyjny – w formie ogólnej rekomendacji dotyczącej możliwości wdrożenia badanych dodatków paszowych (mączki z larw *Hermetia illucens* i astaksantyny) w praktyce żywieniowej, z uwzględnieniem ich optymalnej dawki i kombinacji. Tego rodzaju uzupełnienie mogłoby stanowić cenny łącznik między częścią poznawczą pracy a jej potencjalnym znaczeniem praktycznym.

Ponadto, z racji pełnionej funkcji recenzenta, na tym etapie chciałabym również zwrócić uwagę na kilka kwestii, które nasunęły mi się podczas analizy rozprawy doktorskiej. Publiczna obrona będzie, moim zdaniem, właściwym momentem do podjęcia merytorycznej dyskusji nad poniższymi zagadnieniami.

1. LA oznacza kwas linolowy (linoleic acid), dlatego dla kwasu laurynowego powinno stosować się skrót LAU (lauric acid), ponadto, dla astaksantyny sugeruję używanie skrótu AX, a nie AST, ponieważ AST w terminologii medycznej oznacza aminotransferazę asparaginianową, co może prowadzić do nieporozumień.
2. Mam zastrzeżenie do użycia terminu "produkcyjność młodych zwierząt". W mojej opinii bardziej odpowiednie jest wyrażenie "wyniki produkcyjne", ponieważ "produkcyjność" odnosi się do cechy trwałej, a "wyniki produkcyjne" lepiej opisują konkretne efekty w danym okresie.
3. Z jakich powodów badania przeprowadzono wyłącznie na samcach? Czy istnieją konkretne podstawy dla wyboru tej płci?
4. Czy potrafi Pani opisać proces pozyskiwania mączki owadziej pełnotłustej wytwarzanej z larw muchy *Hermetia illucens*?
5. Skąd pochodziła astaksantyna (AST), wytworzona z alg *Haematococcus pluvialis*?



6. W manuskrypcie brakuje informacji na temat terminu rozpoczęcia i zakończenia doświadczenia. Czy mogłaby Pani podać szczegóły dotyczące tego okresu?
7. Proszę o wyjaśnienie, dlaczego prosięta zostały odsadzone w wieku 35 dni, mimo że powszechnie uznaje się, iż optymalny wiek odsadzania w hodowli wynosi 28 dni, czyli 3 tygodnie.
8. W manuskrypcie opisano że „Zważono również poszczególne odcinki przewodu pokarmowego (P1)” proszę o doprecyzowanie, które dokładnie odcinki przewodu pokarmowego zostały zważone.
9. Czy przed ubojem zwierzęta otrzymywały paszę? Proszę opisać szczegóły tego etapu.
10. Pasze analizowano pod kątem składników chemicznych – a czy analizie poddano również czynniki doświadczalne?
11. W kilku miejscach użyto sformułowania „stężenie enzymów”. Jest to niepoprawne, ponieważ enzymy mierzy się przez ich aktywność, a nie stężenie. Proszę o poprawienie tego sformułowania.
12. Uważam za zbędne powtarzanie w dyskusji treści, które zostały już omówione we wstępie.
13. Z dostępnych danych literaturowych wynika, że zalecane poziomy stosowania astaksantyny wynoszą 0,05–0,2% dla świń oraz 1,33–2,66% dla drobiu. Proszę o uzasadnienie zastosowania dawki 0,25% w prezentowanym doświadczeniu.
14. W jakim dokładnie momencie pobierano krew do analiz — czy było to na czczo, czy po podaniu paszy? Proszę o doprecyzowanie tego etapu.
15. W manuskrypcie użyto sformułowania „w normach fizjologicznych”, co jest niepoprawne, ponieważ poprawna forma to „w zakresie wartości referencyjnych”. Wynika to z faktu, że aby opracować rzeczywiste normy fizjologiczne, konieczne jest przeprowadzenie szeroko zakrojonych badań populacyjnych na dużej liczbie zwierząt, uwzględniających czynniki takie jak wiek, płeć, rasa czy warunki utrzymania.
16. Ponieważ w Tabeli 1 przedstawiono wskaźniki krwi dla poszczególnych profili metabolicznych, z których część wykazuje istotność statystyczną, wskazane byłoby odniesienie się do tych wyników w dyskusji. Proszę również o wyjaśnienie, co mogło spowodować zmiany w wartościach wskaźników profilu lipidowego, wątrobowego oraz trzustkowego.
17. Autorzy wskazują na zmniejszenie ekspresji kładyny 1 pod wpływem astaksantyny. Proszę o ustosunkowanie się do tego stwierdzenia — czy obniżenie ekspresji kładyny 1 jest korzystne, czy niekorzystne dla zwierząt?



Pomimo kilku uwag, wynikających z roli recenzenta, oceniam dysertację bardzo wysoko. Przedstawiony w niej kompleksowy zakres badań świadczy o doskonałym opanowaniu tematyki oraz ogromnym nakładzie pracy włożonym w realizację projektu. Doktorantka wykazała się wyjątkowym zaangażowaniem i w pełni sprostала postawionym przed nią zadaniom. Wysoki poziom naukowy uzyskanych wyników potwierdza ich publikacja w renomowanych czasopismach o międzynarodowym zasięgu, co stanowi solidną podstawę do oczekiwań, że będą one szeroko cytowane w literaturze fachowej.

Reasumując, uważam, że rozprawa przedłożona przez mgr inż. Kingę Szczepanik stanowi wartościowe opracowanie naukowe o istotnym znaczeniu zarówno poznawczym, jak i aplikacyjnym. Tematyka pracy jest aktualna i dobrze wpisuje się w kierunki rozwoju współczesnej zootechniki, ze szczególnym uwzględnieniem nowoczesnych rozwiązań w żywieniu zwierząt monogastrycznych. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że doktorantka samodzielnie realizowała wymagającą i złożoną część laboratoryjno-analityczną pracy. Wykonywała liczne oznaczenia i analizy z wykorzystaniem nowoczesnych technik badawczych, wykazując się bardzo dobrą organizacją pracy, precyzją oraz wysokim poziomem kompetencji praktycznych. Sprawnie posługiwała się aparaturą laboratoryjną oraz stosowała właściwe procedury analityczne, co potwierdza jej przygotowanie do prowadzenia pracy eksperymentalnej na wysokim poziomie.

Efekty tej pracy świadczą o dojrzałości naukowej mgr inż. Kingi Szczepanik, jej dużym zaangażowaniu oraz predyspozycjach do dalszego rozwoju badawczego.

Przedłożona rozprawa odpowiada warunkom określonym dla rozpraw doktorskich w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t. j. Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.). W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Zootechniki – Państwowego Instytutu Badawczego wniosek o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Kingi Szczepanik do dalszego etapu przewodu doktorskiego.

