



Poznań, 06.06.2009

dr hab. Małgorzata Szumacher-Strabel  
Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Jacka Michalskiego

na temat: Wykorzystanie endogennego azotu mocznika do syntezy białka bakteryjnego w żwaczu i białka mleka u kóz żywionych dawkami o różnej zawartości białka.

Tematyka badawcza przedstawionej do oceny pracy doktorskiej dotyczy określenia wpływu koncentracji białka w dawce pokarmowej na ilość mocznika endogennego przechodzącego z krwi do żwacza, syntezę białka mikrobiologicznego i wbudowanie mocznika do białka mleka kóz mlecznych.

Przeżuwacze, ze względu na budowę przewodu pokarmowego oraz bytujące głównie w żwaczu mikroorganizmy posiadają zdolność do wykorzystania białka dawki pokarmowej a także związków azotowych niebiałkowych. Niezbędną energię do przeprowadzenia procesów umożliwiających wykorzystanie różnych źródeł azotu czerpią natomiast, w odróżnieniu od zwierząt monogastycznych, z rozkładu węglowodanów strukturalnych przy udziale enzymów wytwarzanych przez drobnoustroje zasiedlające żwacz i inne przedżołądki. Przemiany białka w żwaczu i synteza białka mikrobiologicznego zachodzą wielotorowo, a głównym produktem metabolizmu zarówno białek, jak i związków azotowych niebiałkowych w żwaczu jest amoniak. Powstałe białko mikrobiologiczne charakteryzuje się wyższą wartością biologiczną niż białko dawki pokarmowej. Nadmiar powstałego w żwaczu



amoniaku (nie wykorzystany do syntezy białka mikrobiologicznego) zostaje wchłonięty do krwi i limfy, skąd żyłą wrotną trafia do wątroby, gdzie jest metabolizowany do mocznika.

Na podstawie dostępnych danych literaturowych autor wskazał, iż na tempo ureogenezy wątrobowej ma wpływ ilość pobieranego białka ogólnego, jego podatność na rozkład w żwaczu, dostępność energii oraz status produkcyjny zwierzęcia, a w konsekwencji ilość amoniaku docierającego z krwią do wątroby. Autor wskazuje również, iż dwie trzecie endogenego mocznika trafia do różnych części przewodu pokarmowego, w tym do żwacza, a jedna trzecia jest wydalana przez nerki. Udział mocznika trafiającego do żwacza wraz ze śliną stanowi od 15 do 100 % mocznika endogenego. Na recyrkulację mocznika, podobnie, jak na tempo ureogenezy, ma bezpośredni i pośredni wpływ poziom białka dawki pokarmowej i ilość dostępnej energii.

Mocznik jest ponadto składnikiem mleka a jego koncentracja jest skorelowana z zawartością białka w mleku, zależy więc m.in. od pobrania białka dawki pokarmowej, tempa jego rozkładu oraz statusu energetycznego żwacza.

Na podstawie przytoczonych danych literaturowych doktorant sformułował następujące cele dysertacji doktorskiej zakładając ich realizację przy trzech różnych poziomach białka ogólnego dawki pokarmowej:

1. oszacowanie wykorzystania azotu pochodzącego z mocznika endogenego do syntezy białka bakteryjnego w żwaczu kozy w okresie laktacji
2. wyjaśnienie, w jakim stopniu azot mocznika endogenego przechodzi do mocznika mleka
3. oszacowanie wykorzystania azotu mocznika endogenego wbudowanego w białko bakteryjne mikroorganizmów żwacza, do syntezy białek mleka.

Analizowana tematyka dysertacji doktorskiej nie jest nowa w literaturze światowej, jej *novum* w przedstawionej do oceny pracy stanowi przede wszystkim wyjaśnienie jaki wpływ ma poziom białka w dawce pokarmowej na wbudowanie azotu mocznika endogenego do mocznika i białka mleka. Badania przeprowadzono na kozach w laktacji, jak podaje autor, ze



względu na wyższą zawartość mocznika w mleku tego gatunku w porównaniu do mleka innych przeżuwaczy.

Przedłożona do oceny praca mgr Jacka Michalskiego stanowi dobrze udokumentowane opracowanie. Z obowiązku recenzenta przedstawię charakterystykę poszczególnych jej rozdziałów oraz drobne uchybienia.

Rozprawa doktorska mgr Jacka Michalskiego, która liczy 65 stron wraz z 13 tabelami oraz 10 wykresami została przedstawiona w następujących rozdziałach: Wstęp, Hipoteza badawcza i cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie, *Abstract*, Literatura, Spis tabel, Spis wykresów.

We *Wstępie* pracy stanowiącym równocześnie swego rodzaju przegląd literatury autor dokonuje analizy stanu wiedzy na temat metabolizmu azotu u przeżuwaczy, mocznika endogennego, jego recyrkulacji w organizmach przeżuwaczy, a także, wobec niewielu danych literaturowych, dokonuje przeglądu stanu wiedzy na temat wykorzystania azotu mocznika endogennego krwi przez zwierzęta przeżuwające w okresie laktacji. Na 12 stronach stwierdziłam kilkakrotne powtórzenie przedstawionych wcześniej informacji, co w pierwszym momencie można uznać za chęć podkreślenia wagi tematu, jednak w miarę czytania rozdziału dochodzę do wniosku iż jest to efekt niezamierzony i niepotrzebny.

Np. na stronie 7 w ostatnim akapicie informacje dotyczące obecności źródeł energii jako warunku syntezy białka mikrobiologicznego są poprzedzone (w przedostatnim akapicie) informacją na temat możliwości syntezy mikrobiologicznej w zależności od dostępności energii. Podobnie, na stronie 8 autor wskazuje wątrobę jako miejsce metabolizowania amoniaku do nietoksycznego mocznika, podczas gdy, na stronie 9 powtarza, że głównym miejscem detoksykacji amoniaku w organizmie przeżuwacza jest wątroba. Pomimo nieco innego sformułowania, znaczenia wyżej wymienionych zdań, jak i kilku innych w rozdziale *Wstęp* są identyczne.

W omawianym rozdziale autor podaje dane naukowe bez podania ich źródła. Np. na stronie 16 podaje procentowy skład mleka koziego bez podania źródła danych – badania własne, czy dane literaturowe?



---

*Hipoteza badawcza i cel pracy* zostały precyzyjnie określone i nie budzą wątpliwości.

Rozdział *Materiał i metody* opracowano na 5 stronach opisując poszczególne etapy pracy badawczej. W pracy wykorzystano szereg technik analitycznych. Na podkreślenie zasługuje oznaczenie azotu  $^{15}\text{N}$ , które przeprowadzono w Niemczech. Czy doktorant brał udział w tych oznaczeniach i czy miał szansę zapoznać się z metodyką? W podrozdziale *Zwierzęta* autor podaje, iż po oddzieleniu koźląt od matek wprowadzono 'dój ręczny'. Czy, jak sądzę, chodzi w tym przypadku o dojenie dojarką bańkową? W podrozdziale *Przebieg doświadczenia* autor opisuje układ kwadratu łącińskiego 3 x 3 przeprowadzany w trzech 22-dniowych okresach doświadczalnych, z 12-to dniowymi okresami adaptacji do diety. Niektórzy autorzy sugerują 21-dniowe okresy adaptacyjne w przypadku wykorzystania w badaniach żywieniowych systemu kwadratu łącińskiego. Czy 12-dniowe okresy adaptacji do diety są wystarczające w przypadku przeprowadzonych przez autora badań? W podrozdziale *Przygotowanie próbek do oznaczeń i metody analityczne* autor podaje, iż dwukrotnie wykorzystano metodę Conway'a, w tym raz napisaną błędnie. Podrozdział ten, pomimo zawartych w nim pełnych informacji ma mało przejrzystą formę, która utrudnia jego analizę. W zrealizowanej pracy nie znalazłam informacji na temat koncentracji lotnych kwasów tłuszczowych w żwaczu, co wobec bardzo szerokiej zależności między koncentracją białka a poziomem energii opisywanych w rozdziale *Wstęp* pozostawia pewien niedosyt informacyjny dotyczący interpretacji uzyskanych wyników.

*Wyniki* zostały opisane wnikliwie wskazując ważniejsze różnice potwierdzone statystycznie.

*Dyskusja* została poprowadzona przez doktoranta logicznie, potwierdzając dobrą znajomość zagadnienia oraz cytowanej literatury, chociaż porównując wyniki swoich badań z wynikami prac innych autorów doktorant wskazuje wielokrotnie jedynie na podobne lub odmienne rezultaty nie zapoznając czytającego dokładniej z rodzajem badań, czy np.



poziomem białka w dawce w porównywanych badaniach. Brakuje również niekiedy głębszej analizy i wyprowadzania własnych hipotez tłumaczących omawiane zjawiska.

W pierwszym akapicie autor opisując dane dotyczące pobierania paszy sugeruje, iż 'najniższe pobranie paszy w przypadku grupy o średnim poziomie białka było spowodowane wyraźnie mniejszym spożyciem przez jedno zwierzę w tej grupie'. Czy system badań w kwadracie łacińskim nie powinien eliminować tego typu zjawisk poprzez trzykrotne powtórzenie tego samego czynnika doświadczalnego na trzech różnych zwierzętach w różnym czasie? Czy pobranie paszy przez jednego osobnika było tak niskie, iż tak mocno rzutowało na wynik badań?

Niejasny jest akapit trzeci na stronie 41 dotyczący wpływu składu dawki na ilość wydalonego moczu. W podrozdziale *Wydalanie azotu*, autor tłumacząc zależności między poziomem pobranego białka a wydalaniem związków azotowych sugeruje, że wśród tych związków prawdopodobnie wydalana była również alantoina, będąca markerem syntezy białka mikroorganizmów w żwacu. Czy była to jedyna zależność, na podstawie której wysnuto te hipotezy?

Dane przedstawione w podrozdziale *Wydajność i skład mleka* (strona 44) pozostają w pewnej sprzeczności z wynikami przedstawionymi w rozdziale *Wyniki* (strona 28). Autor pisze na przykład: 'W przeprowadzonych doświadczeniach wydajność mleka i wydajność białka mleka nie była skorelowana z poziomem białka w dawce pokarmowej...', podczas gdy w *Wynikach* pisze: 'Najwyższą dzienną wydajność mleka zanotowano w grupie o najwyższym poziomie białka w paszy (Tabela 7), itd....'. W kolejnych zdaniach na stronie 44 są kolejne niejasności dotyczące np. składu mleka a koncentracji białka w dawce.

Niektóre zdania w rozdziale *Dyskusja* są powtórzeniami zdań z *Wyników*, a ponadto również w ramach rozdziału *Dyskusja* autor powtarza niektóre stwierdzenia.

Pomimo pewnych drobnych uchybień rozdział ten wskazuje na umiejętności analitycznego myślenia oraz łączenia faktów przez doktoranta.

*Wnioski* w pełni odpowiadają na pytania zawarte w postawionych celach naukowych pracy. Na szczególne podkreślenie zasługują informacje dotyczące wpływu zawartości białka



w dawce pokarmowej na wykorzystanie azotu mocznika endogennego do syntezy białek mleka. Uzyskane w wyniku realizacji omawianej pracy doktorskiej dane stanowią bardzo interesujące i ważne źródło informacji naukowych.

Rozdział stanowiący *spis literatury* obejmuje 116 pozycji. Zawiera on zbiór najnowszej światowej literatury (opublikowanej do 2008 roku) uwzględniającej omawiane zagadnienia. Autor bardzo sprawnie posługuje się zawartymi w publikacjach informacjami. Zastanawia mała liczba publikacji w ostatnich 10 latach, co może być spowodowane trudnościami metodycznymi i restrykcjami związanymi z oznaczeniem azotu  $^{15}\text{N}$ . Jest to dodatkowy atut przedstawionej do recenzji pracy.

Reasumując uważam, że oceniana praca doktorska jest napisana bardzo dobrze, a stwierdzone usterki nie obniżają jej walorów poznawczych i nie umniejszają wartości merytorycznej. Praca dostarcza bardzo interesujących nowych danych, które po opublikowaniu w czasopismach o zasięgu światowym uzupełnią lukę informacyjną na badany temat.

Przedstawiając powyższe stwierdzam, że oceniana praca odpowiada w pełni wymogom stawianym rozprawom doktorskim, a określonym w Ustawie Nr 595 z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 z dnia 14 kwietnia 2003 roku) i na tej podstawie wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt Polskiej Akademii Nauk w Jabłonie o dopuszczenie magistra Jacka Michalskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na aktualność podjętej tematyki badawczej, oryginalność tematu, zastosowanie skomplikowanej metodyki badawczej oraz uzyskanie wielu wartościowych wyników postuluje o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Jacka Michalskiego.

Małgorzata Szumacher-Strabel