

Recenzja

Rozprawy doktorskiej pt. „**Wykorzystanie endogenego azotu mocznika do syntezy białka bakteryjnego w żwaczu i białka mleka u kóz żywionych dawkami o różnej zawartości białka**” wykonanej przez pana mgr Jacka Pawła Michalskiego w Instytucie Fizjologii i Żywienia PAN w Jabłonie pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Kowalczyka

Właściwe zbilansowane dawek pokarmowych dla przeżuwaczy pod względem białka i energii pozwala na pokrycie ich zapotrzebowania na te składniki pokarmowe. O właściwym zbilansowaniu dawek pokarmowych decyduje znajomość procesów metabolicznych białka i energii zachodzących w żwaczu i poza żwaczem. Niewłaściwe proporcje w dawce pokarmowej związków azotowych (białka i NPN) oraz węglowodanów będących źródłem energii dostępnej dla mikroorganizmów żwacza powodują, że powstający, ze związków azotowych rozkładanych w żwaczu, amoniak jako źródło N w syntezie białka mikrobiologicznego jest w nadmiarze w stosunku do energii. Nadmiar amoniaku zostaje wchłonięty do krwi i limfy i żyłą wrotną dostaje się do wątroby gdzie ulega detoksykacji do mocznika. U zwierząt przeżuwających w przeciwieństwie do zwierząt jedno żołądkowych większość mocznika wytworzonego w wątrobie przechodzi do przewodu pokarmowego, głównie do żwacza, i tylko niewielka jego część jest wydalana przez nerki. Obecnie niewiele jest danych dotyczących wykorzystania N mocznika endogenego przez zwierzęta przeżuwające w okresie laktacji.

Podjęty przez mgr Jacka Pawła Michalskiego temat rozprawy doktorskiej jest nowatorski, nie był bowiem dotychczas badany wpływ poziomu białka w dawce pokarmowej na wbudowanie azotu mocznika endogenego do mocznika i białka mleka u zwierząt przeżuwających w czasie laktacji.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest logicznie opracowana i wystarczająco udokumentowana, liczy 65 stron maszynopisu, w tym 13 tabel i 10 wykresów ilustrujące otrzymane na kozach będących w laktacji wyniki własne oraz 116 pozycji cytowanej literatury obejmującej najważniejsze pozycje omawianych zagadnień za lata 1940 do 2008, co rzadko się zdarza, aby tak szeroki zakres piśmiennictwa był analizowany w pracy doktorskiej. Praca zredagowana jest według klasycznego modelu przyjętego dla dysertacji doktorskich z podziałem na rozdziały: wstęp obejmujący przegląd piśmiennictwa, z uzasadnieniem podjęcia badań z hipotezą badawczą i celem pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis cytowanej literatury, spis tabel i spis wykresów. Zawiera również spis treści. Podział głównych rozdziałów na podrozdziały jest znacznym ułatwieniem w przyswojeniu treści pracy.

W rozdziale „Wstęp”, który właściwie jest przeglądem literatury Autor dokonuje szerokiego przeglądu piśmiennictwa dotyczącego metabolizmu azotu u zwierząt przeżuwających zwracając szczególną uwagę na czynniki mające wpływ na proces ureogenezy wątrobie i proces recyrkulacji mocznika endogenego do przewodu pokarmowego takie jak poziom i szybkość rozkładu białka ogólnego w żwaczu, poziom dostępnej energii i produktywność zwierzęcia

Następnie w oparciu o piśmiennictwo omawia czynniki mogące mieć wpływ na stężenie mocznika w białku ogólnym mleka w powiązaniu z recyrkulacją mocznika endogennego do żywca. Szkoda, że Autor nie wydzielił osobno rozdziału „Wstęp”, który byłby krótkim ogólnym wprowadzeniem do problematyki podjętych badań własnych, i rozdziału „Przegląd literatury”, w którym myśli zawarte we wstępie byłyby szeroko rozwinięte. Omawiając piśmiennictwo doktorant wykazuje się dużą znajomością stanu wiedzy odnośnie omawianych zagadnień i umiejętnością w ich interpretacji. Niepotrzebnie jednak Autor powtarza we wstępie kilkakrotnie informacje dotyczące niektórych zagadnień związanych np. z syntezą białka mikrobiologicznego w zależności od dostępnej energii lub omawia rolę wątroby w detoksykacji amoniaku. Takie powtarzanie informacji, które omówiono wcześniej występuje dosyć często pomimo, że zdania są nieco inaczej zbudowane. Uważam również, że używane przez doktoranta takie pojęcia jak „klirens” lub „osmolalność” powinny być szerzej wyjaśnione, podobnie jak to zrobiono w przypadku wazopresyny (str 15) np. „obserwowano spadek klirensu mocznika (współczynnika przesączania kłębuszkowego w nerkach?)” lub „zwiększenia osmolalności (zagęszczenia moczu?)” Nasuwa się także pytanie na podstawie jakich badań podano skład mleka koziego.

Hipoteza badawcza i wynikający z niej cel badań będące zakończeniem tego rozdziału są jasno sformułowane i nie budzą zastrzeżeń.

Metodyka badań jest dobrze przygotowana pod względem koncepcji i zakresu badań, oraz przyjętych metod badawczych co pozwoliło na zrealizowanie ambitnego celu badań. Dobór metod badawczych i analitycznych jest prawidłowy mieszczący się w standardach nowoczesnych badań naukowych. Dla uwiarygodnienia uzyskanych wyników badań poddano je statystycznej ocenie w oparciu o dobrze dobrane metody statystyczne.

Analizując ten rozdział nasuwają się jednak pewne pytania, względnie niejasności lub potrzeba pewnych uzupełnień. Niektóre z nich podaję poniżej:

str.20 - czy zaplanowana dawka pokarmowa miała zapewnić żywienie zwierząt do woli, jaka była średnica granul mieszanek paszowych

str 21 niepotrzebnie powtarza się znowu, że zwierzęta miały stały dostęp do wody (było już na str 20), tytuł tabeli 2 powinien brzmieć: „Skład chemiczny mieszanek paszowych”, a w podtytule zamiast „Pasza treściwa” należy podać „Mieszanki paszowe” to samo dotyczy tabeli 1

Podrozdział „Przebieg doświadczenia” powinien być uzupełniony słowami „i pobieranie próbek do analiz” W podrozdziale tym niepotrzebnie podaje się jakie wykonywano oznaczenia w pobieranych próbkach materiału biologicznego, gdyż mówi się o tym w podrozdziale dotyczącym przygotowania próbek do analiz i metod analitycznych Autor podaje, że z osocza izolowano białka (poszczególne?) W jaki sposób oznaczano ^{15}N i czy zawartość mocznika w osoczu oznaczano taką samą metodą jak w mleku. Uważam, że Doktorant niepotrzebnie opisuje szczegółowo metodę Czauderny i Kowalczyka (2009), wystarczy powołać się na autorów metody, a podać powinno się tylko jej ewentualną modyfikację.

Opis wyników badań dokonano w oparciu o dane zamieszczone w tabelach i wykresach. Uzyskane wyniki Doktorant przedstawił umiejętnie i konsekwentnie w kolejnych podrozdziałach omawiając je w sposób uporządkowany i merytoryczny chociaż nie uniknął pewnych niedociągnięć. Szkoda, że nie podano ilości pozostawionych przez kozy niedojadów i ich analizy chemicznej, wtedy łatwiej byłoby zrozumieć dlaczego poziom białka w dawce pokarmowej o najwyższym poziomie białka wzrósł do ponad 17% w stosunku do zaplanowanego poziomu. Nie bardzo zrozumiałe jest dlaczego Doktorant omawiając różnice między dawkami podaje rzeczywiste wartości „P”, których nie ma w tabelach (nawet do czwartego miejsca po przecinku,

np. str. 35). Jeżeli pod tabelami wyjaśnia się przy jakim „P” różnice są istotne lub wysoko istotne i jak je literami oznaczono (a,b-P<0,05; A,B-P<0,01) to na tym należy się oprzeć lub na końcu każdej tabeli dopisać dodatkową kolumnę z rzeczywistymi wartościami „P”. Brakuje wyjaśnienia co oznacza brak liter między niektórymi wartościami w niektórych tabelach. Na podstawie wyjaśnień pod tabelami trudno jest także określić czy są statystycznie istotne różnice i na jakim poziomie jeżeli przy danej wartości dla jednej dawki jest tylko litera „a”, a dla drugiej litera A (np. tabela 5) Niższe pobranie paszy przez kozy otrzymujące dawkę z 13% poziomem białka Autor wyjaśnia w dyskusji „wyraźnie mniejszym spożyciem przez jedno zwierzę w tej grupie”.

Biorąc pod uwagę pobranie suchej masy podane w tabeli 4 oraz ilość suchej masy w zaplanowanej dziennej dawce pokarmowej (1,2 kg siana i 1,0 kg mieszanki paszowej) niedojady na diecie nisko i średnio białkowej w okresie infuzji wynosiły około 26% a na dawce wysoko białkowej około 21% suchej masy. Ile wynosiły niedojady u kozy gorzej pobierającej paszę, czy wyraźnie mniejsze pobranie suchej masy u tego zwierzęcia nie rzutowało na wyniki badań, może należało powtórzyć badania, układ kwadratu łacińskiego daje chyba możliwość wykluczenia podobnych zaburzeń w prowadzonych badaniach. Zastanawiające jest również dlaczego w okresie wstępnym, adaptacyjnym kozy pobierały prawie całą zaplanowaną dzienną dawkę pokarmową (98%), a w czasie infuzji były tak duże niedojady.

Wartościowym elementem uzyskanych przez Doktoranta wyników badań są krzywe regresji dotyczące dynamiki zmian w stężeniu ¹⁵N w badanych próbkach materiału biologicznego zależnie od poziomu białka w dawkach pokarmowych, które wnoszą nowe dane odnośnie recyrkulacji mocznika. Należy podkreślić, że Doktorant z dużą umiejętnością przedstawia i interpretuje uzyskane wyniki co świadczy o dobrym przygotowaniu do prowadzenia badań i dojrzałości naukowej.

Dyskusja jest trudnym rozdziałem dla autora w każdej pracy naukowej. W ocenianej dysertacji rozdział ten został opracowany starannie i logicznie. Wyniki poddano starannej analizie i dokonano ich oceny w oparciu o bogate i dobrze dobrane piśmiennictwo. Autor wykazał się dużą wiedzą odnośnie omawianych zagadnień. Niepotrzebnie jednak Doktorant powtarza w dyskusji wyniki badań, które zostały już opisane wcześniej w rozdziale „Wyniki”. Ponadto zbyt często Autor tylko porównuje własne wyniki badań z wynikami uzyskiwanymi przez innych autorów nie podając np. jakiego rodzaju były to badania, na jakich zwierzętach i jaki był np. poziom białka w dawkach pokarmowych. Ponadto niektóre zdania i stwierdzenia użyte w rozdziale „Wyniki” są w identycznym brzmieniu użyte w dyskusji.

Na str. 42. Autor podaje, w dawce o najwyższym poziomie białka była mniejsza niż w pozostałych dawkach ilość węglowodanów – nasuwa się pytanie o jakich węglowodanach jest mowa

Na str. 43 Doktorant sugeruje, że kozy żywione dawką z 17% zawartością białka pobierające najwięcej suchej masy mogły wydalac również najwięcej allantoiny ze względu na większą syntezę białka mikrobiologicznego, ale dawka ta zawierała również najmniej, jak wcześniej informuje Autor, węglowodanów będących źródłem energii, w syntezie białka, czy nie ma tu sprzeczności?

Na str. 44 Autor podaje, że wydajność mleka i białka mleka nie była skorelowana z poziomem białka w dawce pokarmowej ale z dziennym pobraniem paszy, natomiast powołując się na tabelę 7 stwierdza, że największą wydajność mleka i białka mleka uzyskano na dawce zawierającej 17% białka? W tabeli 7 brakuje ponadto danych dotyczących wydajności białka mleka, natomiast podano wydajność azotu ogólnego.

Dysertacja jest zakończona 6 wnioskami. Przedstawione wnioski są uzasadnione i wynikają z danych otrzymanych w badaniach własnych. Uważam, że wniosek pierwszy i drugi można połączyć w jedną całość. Za bardzo istotny uważam wniosek mówiący o wpływie poziomu białka w dawce pokarmowej na wykorzystanie azotu mocznika endogennego do syntezy białka mleka.

Zamieszczone w pracy piśmiennictwo świadczy, że Doktorant ma bardzo dobre rozeznanie w literaturze naukowej co mu znacznie pomogło w podjęciu nie prowadzonych dotychczas badań nad wykorzystaniem N mocznika endogennego do syntezy białka mleka. Literatura jest adekwatna do tematu badań i cytowana poprawnie w tekście pracy.

Streszczenia pracy zarówno w języku polskim i angielskim są dobrze przygotowane, w sposób syntetyczny i klarowny przedstawiają uzyskane wyniki badań. W streszczeniu angielskim stosowane dawki pokarmowe oznaczono jako LP, MP i HP, szkoda, że podobnych oznaczeń dawek pokarmowych nie wprowadzono w pracy doktorskiej.

Ogólnie uważam, że przedstawiona do oceny praca doktorska pana mgr Jacka Pawła Michalskiego pomimo pewnych usterek wnosi nowe nieznane dotychczas informacje naukowe do wiedzy dotyczącej wykorzystania endogennego mocznika przez zwierzęta przeżuwające i powinna być jak najszybciej opublikowana.

Podsumowując ocenę dysertacji doktorskiej pana mgr Jacka Pawła Michalskiego wysoko oceniam jej wartość poznawczą oraz dobre przygotowanie Doktoranta do pracy naukowej. Rozprawa spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim i odpowiada warunkom określonym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i i tytule naukowym oraz stopniach i i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz 595 z późniejszymi zmianami). W związku z tym wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt-PAN o przyjęcie pracy i dopuszczenie mgr Jacka Pawła Michalskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto mając na uwadze nowatorstwo podjętych badań oraz dużą wartość poznawczą wyników pracy, szeroki zakres przeprowadzonych badań i użycie nowoczesnych metod badawczych wnoszę do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr. Jacka Pawła Michalskiego.

Prof. dr hab. Juliusz Strzetelski