



INSTYTUT ROZRODU ZWIERZĄT I BADAŃ ŻYWNOŚCI
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn 5; skr. poczt.55 tel. (4889) 523-46-86; (4889) 524-03-13
fax (4889) 524-01-24; e-mail: institute@pan.olsztyn.pl; www.pan.olsztyn.pl

ODDZIAŁY: ENDOKRYNOLOGII I PATOFIZJOLOGII ROZRODU
NAUKI O ŻYWNOŚCI

dr hab. Janina Skipor-Lahuta, profesor nadzwyczajny
Zakład Lokalnych Regulacji Fizjologicznych
IRZiBŻ PAN w Olsztynie

Olsztyn, 16 stycznia 2017

Recenzja

pracy doktorskiej mgr inż. Michała Błasiaka

pt. "Wpływ egzogennej melatoniny i długości dnia na sekrecję i skład chemiczny mleka owiec"

wykonanej w Katedrze Biotechnologii Zwierząt Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie pod kierunkiem dr hab. inż. Edyty Molik.

Recenzja została wykonana na wniosek Rady Naukowej Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie z dnia 7 maja 2014 roku, zgodnie z wymaganiami art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r, Nr 65, poz. 595; Dz.U. z 2005 r, Nr 164 poz. 1365 oraz Dz.U. z 2011 r. Nr 84 poz. 455) .

W ostatnich latach duże zainteresowanie budzi żywność funkcjonalna, która poza efektem odżywczym, wpływa korzystnie na jedną lub więcej funkcji organizmu. Wpływ ten polega na poprawie stanu zdrowia, samopoczucia i/lub zmniejszenia ryzyka chorób. Wymagania żywności funkcjonalnej spełniają produkty pochodzenia owczego, czyli mleko i mięso jagnięce. Niektóre kwasy tłuszczowe obecne w mleku wykazują właściwości funkcjonalne, jak np. wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA). Tłuszcz mleczny jest również najbogatszym naturalnym źródłem CLA (sprężone dieny kwasu linolowego), którego działanie przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe, przeciwcukrzycowe i efekty immunomodulacyjne zostały udokumentowane w warunkach *in vivo* i na modelach zwierzęcych. Najwyższe

zawartości kwasu wakcenenowego i CLA obserwuje się zazwyczaj w mleku owiec, następnie krów, a najniższe u kóz. W Polsce mleko owcze jest pozyskiwane w niewielkiej ilości i wynosi około 1000 t rocznie. Tradycyjnie doi się owce w okresie letnich wypasów na Podhalu, w Beskidach i Bieszczadach. W nizinnych rejonach kraju mleko owcze pozyskuje się w gospodarstwach ekologicznych, agroturystycznych oraz w gospodarstwach prowadzących intensywne użytkowanie mleczne owiec, nastawionych na całoroczne dostawy produktów mlecznych.

Owce są zwierzętami sezonalnymi, u których rozród odbywa się sezonowo i w związku z powyższym podaż surowców pozyskiwanych od tych zwierząt, w tym mleka i mięsa jest również sezonowa. Zabiegi biotechnologiczne pozwoliły w pewnym stopniu ograniczyć te trudności. Obecnie możliwe jest przygotowanie jagniąt do uboju praktycznie we wszystkich porach roku, jednak wciąż niezadawalające są parametry laktacji. U maciorek wykończonych w okresie długiego dnia i następnie dojonych w okresie skracającego się dnia obserwuje się dużo niższą wydajność mleczną w porównaniu do owiec wykończonych w miesiącach zimowych i dojonych w okresie lata. W Polsce rasą użytą mlecznie jest polska owca górska oraz owca długowłnista, u których wydajność mleczna jest dużo niższa, a okres laktacji znacznie krótszy w porównaniu do ras owiec typowo mlecznych, jak francuska rasa lacaune. Opracowanie strategii pozwalającej na utrzymanie laktacji u owiec sezonalnych, w okresie skracającego się dnia na opłacalnym ekonomicznie poziomie jest dużym wyzwaniem dla hodowców i naukowców. Zatem podjęty przez Doktoranta temat uważam za istotny. Badania te mają nie tylko aspekt poznawczy, są również odzwierciedleniem potrzeb polskiego owczarstwa.

CHARAKTERYSTYKA PRACY I UWAGI

Oceniana rozprawa, licząca 147 stron, została napisana zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami dla rozpraw naukowych. Zawiera kartę tytułową, spis treści, spis tabel i wykresów oraz następujące rozdziały: wstęp, cel doświadczeń, materiał i metody badań, wyniki, dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz bibliografia. Formalna strona pracy nie budzi zastrzeżeń.

W obszernym, trzydziestostronicowym „**Wstępie**” Doktorant omówił mechanizmy kontrolujące wydzielanie prolaktyny, kluczowego hormonu dla przygotowania gruczołu mlekowego w ciąży i utrzymania jego aktywności podczas laktacji. Scharakteryzował działanie głównych czynników hamujących i stymulujących syntezę i wydzielanie prolaktyny, jej budowę, receptor oraz ścieżki uruchamiane podczas aktywacji receptora. Omówił również rolę

innych czynników istotnych dla rozwoju gruczołu mlekowego i laktacji. Oddzielny podrozdział poświęcił wpływowi długości dnia na proces laktacji omawiając w nim nadrzędną rolę melatoniny w sezonowej regulacji wydzielania prolaktyny. W dalszej części omówiono czynniki wpływające na skład chemiczny mleka. W podrozdziałach tych zostały zawarte przesłanki skłaniające do podjęcia badań nad wpływem implantów melatoniny i długości dnia na sekrecję i skład chemiczny mleka owiec. Oddzielny podrozdział poświęcono walorom prozdrowotnym mleka owczego.

W niektórych miejscach tekstu użyto niewłaściwych określeń, np., że „*prolaktyna przenika do centralnego układu nerwowego na drodze dyfuzji poprzez splot naczyniówkowy do płynu mózgowo-rdzeniowego*” (str. 18). Prolaktyna o masie 23 kDa jest zbyt dużą cząsteczką aby rozważać dyfuzję przez układ błon komórkowych. Dotychczas uważano, że transport prolaktyny przez barierę krew-płyn mózgowo-rdzeniowy odbywa się z udziałem receptora prolaktyny. Najnowsze badania wykazały jednak, że transport odbywa się za pośrednictwem niezidentyfikowanego transportera, a nie receptora prolaktyny (*Brown i wsp. Prolactin transport into mouse brain is independent of prolactin receptor. FASEB J. 2016, 30(2):1002-10*). Niewłaściwe jest też podawanie, że „*z przedniego płata przysadki mózgowej do podwzgórza prolaktyna dociera za pośrednictwem układu neurohemalnego*” (str.18). Układ neurohemalny to skupisko zakończeń aksonów komórek neurosekrecyjnych przylegających do naczyń włosowatych o budowie okienkowej, co umożliwia docieranie uwalnianych w nich czynników bezpośrednio do krwi. Pod koniec lat 70-tych Mezey i wsp. przedstawili hipotezę o wstecznym przepływie krwi w naczyniach wrotnych przysadki, co ich zdaniem umożliwiało docieranie do wyniosłości pośrodkowej i innych struktur mózgu krwi o wyższej niż na obwodzie koncentracji hormonów przysadkowych. Co Autor miał na myśli pisząc, że „*proces rocznej sekrecji prolaktyny jest bezpośrednio indukowany przez melatoninę, wywierającą wpływ na laktotropy, dzięki swej lipofilności*”? Lipofilność melatoniny ma znaczenie dla jej docierania do miejsc gdzie są receptory, a nie do wpływu na sekrecję prolaktyny. W ostatnich latach opublikowano wyniki wskazujące, że u owiec melatonina obecna w płynie mózgowo-rdzeniowym, a nie melatonina obecna w krwi jest ważnym źródłem wysokiego stężenia tego hormonu w mózgu (*Legros CI, Chesneau D, Boutin JA, Barc C, Malpoux B. Melatonin from cerebrospinal fluid but not from blood reaches sheep cerebral tissues under physiological conditions. J Neuroendocrinol. 2014,26(3):151-63*). Lipofilność melatoniny jest więc istotna dla dyfuzji z płynu do tkanek mózgu, szczególnie w obszarze okołokomorowym. Przy omawianiu stężenia melatoniny w płynie mózgowo-rdzeniowym u owiec właściwsze będzie cytowanie publikacji Skinner DC, Malpoux B 1999 (*High melatonin concentrations in third ventricular cerebrospinal*

fluid are not due to Galen vein blood recirculating through the choroid plexus. Endocrinology 140:4399–4405). Opisując rolę hormonów tarczycy w regulacji sezonowości rozrodu u owiec oraz ich udział w laktacji Autor podał, że trijodotyronina (T3) jest prohormonem dla tyroksyny (T4). Przeciwnie, to T4 jest prohormonem dla T3. Pozostałe niedociągnięcia zostały wyszczególnione w uwagach szczegółowych.

Rozdział „**Cel doświadczeń**” (właściwszym określeniem jest „cel badań”) zawiera tylko cele szczegółowe. Zabrakło w nim hipotezy i ogólnego celu badań.

Rozdział „**Materiał i metody**” jest krótki i obejmuje 9 stron, w tym schemat doświadczenia i 12 fotografii. Wykonanie części eksperymentalnej tak skomplikowanego organizacyjnie doświadczenia na bardzo dużej grupie zwierząt (3 grupy po 20 owiec) jest możliwe tylko w dobrze zorganizowanej i wyposażonej stacji badawczej, którą jest niewątpliwie Stacja Doświadczalna Katedry Biotechnologii Zwierząt na Bielanach. Z własnego doświadczenia wiem, że w tego typu badaniach bardzo ważny jest zespół oraz umiejętności pracy Doktoranta w zespole. Przeprowadzenie zaplanowanych badań wymagało od Doktoranta znajomości zagadnień związanych z hodowlą i mlecznym użytkowaniem owiec, w tym również z fizjologią rozrodu owiec i stosowaniem zabiegów biotechnologicznych. Na podkreślenie zasługuje wybór odpowiedniego terminu założenia implantów melatoniny u owiec, który jest bardzo istotny do zaobserwowania afektów działania melatoniny w naszej szerokości geograficznej. Schemat bardzo ułatwia zrozumienie tego wieloetapowego układu doświadczenia. Nie rozumiem dlaczego Autor, już na początku doświadczenia założył, że owce w Grupie 3 będą dojrzałe dłużej. Czy to jest pomyłka w schemacie doświadczenia? W opisie doświadczenia 2 dla grupy 2 (str. 45) i grupy 3 (str. 46) oraz w schemacie doświadczeń błędnie podano okres stanówki – 10-15 luty. Jeżeli oba doświadczenia mają na celu określenie zmian profilu hormonów oraz składu mleka u owiec wykończonych w czerwcu (ciąża 5 miesięcy) to odpowiednim okresem stanówki jest 10-15 styczeń.

Część analityczna badań została wykonana przy użyciu metody radioimmunologicznej (RIA) oznaczania stężenia hormonów w krwi oraz metod wykorzystywanych w standardowej analizie mleka, do których należą metody oznaczania składu chemicznego mleka. Przeprowadzono również analizę zawartości kwasów tłuszczowych w mleku metodą chromatografii gazowej. Zastosowane w pracy metody nie są metodami nowatorskimi ale w zupełności wystarczą do uzyskania wyników pozwalających na zrealizowanie celu badań. Opis części analitycznej jest zbyt skrócony, brakuje również opisu metody oznaczania zawartości wapnia i fosforu w mleku. Forma skrócona byłaby do przyjęcia w przypadku rozprawy w postaci spójnego tematycznie zbioru artykułów uzupełnionego o krótką charakterystykę prac i

stosowanych metod, gdyż w rozprawach opartych na opublikowanych pracach, metodyka jest już poddana ocenie przez recenzentów wydawniczych. Natomiast w przypadku rozprawy w postaci maszynopisu brak precyzji i zbyt lakoniczny opis niektórych elementów metodyki jest niedociągnięciem. W opisie metody RIA oznaczania stężenia prolaktyny, melatoniny i hormonu wzrostu zabrakło informacji na temat czułości metody oraz wartości błędu między- i wewnątrzseryjnego, które to są niezbędne do weryfikacji poprawności metody. Autor zaznaczył, że analiza stężenia prolaktyny i hormonu wzrostu została przeprowadzona w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt w Jabłonie. Rozumiem, że pozostałe analizy, a w tym oznaczanie stężenia melatoniny, zostały wykonane w Katedrze Biotechnologii Zwierząt samodzielnie przez Doktoranta.

Rozdział „**Wyniki**” obejmuje 50 stron, w tym 22 tabele i 23 wykresy. Moje zastrzeżenia budzi sposób przedstawienia wyników, a szczególnie dublowanie tych samych wyników w tabelach i wykresach. Jest to tylko zwiększenie objętości pracy i nie polepsza jej wartości. W czasopiśmie naukowym przyjmuje się z reguły zasadę, że wyniki są prezentowane albo w jednej albo w drugiej postaci. W wyjątkowych sytuacjach, np. wyrażenie w innych jednostkach dopuszczana jest przyjęta przez Doktoranta forma prezentacji. Zupełnie niepotrzebnie wprowadzono numerację podrozdziałów (np. 4.1.1; 4.1.2; 4.1.3; itd.) do podania informacji, że dane wyniki są prezentowane w postaci tabeli i wykresu. Taka forma nie spełnia swojej funkcji, zamiast porządkować wprowadza bałagan informacyjny. Bałagan wprowadzają również oznaczenia istotności statystycznych. Np. w tabeli 16 (zmiany zawartości laktozy w mleku) podano, że średnie oznaczone tymi samymi literami różnią się istotnie, podczas gdy na wykresie pokazującym te wyniki podano, że średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie. Dalej w tabeli 17 (zmiana zawartości wapnia w mleku) zaznaczono istnienie istotnych różnic (A,B – średnie oznaczone tymi samymi literami w pobraniach różnią się istotnie) w zawartości wapnia między grupami w 3 miesiącu doju. Wg oznaczenia średnia $198,9 \pm 8,9$ mg w 1 grupie różni się istotnie w stosunku do średniej w grupie 2 ($193,5 \pm 10,4$ mg) i w grupie 3 ($239,9 \pm 12,4$ mg) ale nie różni się między grupą 2 i 3. W tekście Autor podaje, że „*przeprowadzone badania wykazały, że przesunięcie laktacji i wprowadzenie egzogennej melatoniny nie spowodowało istotnych różnic w zawartości wapnia w mleku owiec*”. W następnym zdaniu sam sobie zaprzecza podając, że „*w trzecim pobraniu istotnie najwyższą zawartością wapnia charakteryzowało się mleko owiec z implantami melatoniny...*”. Dalsze niezgodności tekstu, wykresu i tabeli znalazłam w wynikach prezentujących poziom fosforu. Dla tych wyników Autor podał „*w drugim pobraniu poziom fosforu nadal istotnie najwyższy był u owiec z*

implantami melatoniny”, podczas gdy w tabeli i na wykresie nie zaznaczono żadnych istotności statystycznych.

Nieodpowiednie jest użycie określenia „zmiany” zawartości kwasów tłuszczowych w odniesieniu do wyników, które przedstawiają procentową zawartość tych kwasów w poszczególnych grupach. Słowo zmiana sugeruje, że coś było mierzone w czasie a tu jest przedstawiane tylko jedno pobranie, dlatego właściwsze będzie użycie słowa „profil”. Doktorant nie podał informacji w jakiej próbie określono profil kwasów tłuszczowych, pobranej na początku laktacji czy pod koniec laktacji. W materiałach i metodach podano, że próby pobierano co 28 dni w celu określenia zawartości kwasów tłuszczowych. Dlaczego na wykresach zawartości kwasów tłuszczowych nie zaznaczono istotności różnic, kiedy takie wykazano w tekście i w tabelach? Tu chciałabym zwrócić uwagę na fakt, że niektóre czasopisma naukowe nie akceptują analizy statystycznej przeprowadzonej na wynikach w procentach. Owszem wyniki w procentach są podawane na wykresach lub w tabelach ale analizowane są statystycznie po ich wcześniejszej transformacji. W opisie analiz statystycznych nie podano, że wyniki procentowe były poddawane transformacji dlatego sądzę, że były analizowane jako wielkości procentowe. W niektórych tabelach pojawiły się niezgodności z tekstem i wykresem, niezgodności te, jak również inne niedociągnięcia podaję w „uwagach szczegółowych”. Te i inne niedociągnięcia dowodzą, że Doktorant zbyt mało uwagi poświęcił formie prezentacji uzyskanych wyników.

Obejmujący 13 stron rozdział „**Dyskusja**”, zawiera interpretację uzyskanych wyników oraz odniesienie do danych z literatury. Jedną z przesłanek do podjęcia badań był brak danych na temat wpływu melatoniny i długości dnia na sekrecję i jakość mleka u owiec sezonowych hodowanych w Polsce. Dlatego nie dziwi fakt, że Autor omawia uzyskane wyniki w odniesieniu do nielicznych publikacji. W wielu miejscach zauważyłam, że zamiast dyskusji uzyskanych wyników pojawia się ich obszerny opis. W dyskusji powinno się raczej tego unikać. Zaintrygował mnie fragment dyskusji dotyczący zjawiska melatoninooporności (str. 108). Autor podaje tylko, że podobnych danych dostarczają wcześniejsze badania przeprowadzone przez Molik i wsp. (2010). Autor powinien rozwinąć ten wątek, szczególnie w sytuacji gdy określenie czy występuje zjawisko melatoninooporności po wprowadzeniu egzogennej melatoniny u ciężarnych owiec było jednym z celów pracy. Uzyskane wyniki można odnieść do tych opublikowanych przez Lincolna i Clarka (*Refractoriness to a Static Melatonin Signal Develops in the Pituitary Gland for the Control of Prolactin Secretion in the Ram, Biology of Reproduction 1997, 57, 460-467*). Czy w pierwszym akapicie na stronie 109 Autor omawia wyniki badań własnych czy innych autorów? Jeżeli są to badania własne to błędnie podano, że

obserwacje odnoszą się do syntezy immunoglobulin. Jeżeli odnoszą się do innych autorów to należy zacytować te prace. W dyskusji wyników dotyczących składu mleka Doktorant podaje, że przesunięcie terminu wykotu oraz podanie egzogennej melatoniny nie spowodowało istotnych zmian w zawartości wapnia, podczas gdy inaczej przedstawiają to wyniki.

Kolejny rozdział „**Wnioski**” zawiera podsumowanie uzyskanych wyników wraz z wnioskami. Przy tak dużej ilości wyników podsumowanie jest potrzebne ale właściwszym rozwiązaniem byłoby zawarcie podsumowania w oddzielnym rozdziale. W podsumowaniu podano, że owce wykocone w lutym charakteryzowały się wyższą wydajnością mleka za okres odchovu jagniąt w odniesieniu do owiec grupy 2 i 3, podczas gdy wyniki wskazują, że tylko w odniesieniu do owiec w grupie 3. Czy podsumowanie wskazujące, że mleko owiec dojonych w warunkach dnia krótkiego oraz poddanych działaniu egzogennej melatoniny charakteryzowało się wyższą zawartością kwasów tłuszczowych nasyconych (SFA) dotyczy % zawartości wszystkich kwasów? Jeżeli dotyczy wybranych to należy podać jakich, ponieważ spośród 11 badanych kwasów zawartość tylko 3 kwasów była wyższa, 3 niższa a 5 nie zmieniła się. Jest to ważne z uwagi na wpływ tych kwasów na wartość prozdrowotną i odżywczą mleka. Podobnie w odniesieniu do MUFA.

W punkcie 8 (wniosek) Doktorant podaje, że przesunięcie terminu wykotu i mlecznego użytkowania na czas skracania się dnia przyczyniło się do pogorszenia składu chemicznego mleka. Czy w sytuacji, gdy zawartość suchej masy, białka, tłuszczu, laktozy, wapnia i fosforu w mleku tych owiec wzrosła można wskazywać, że jego jakość chemiczna się pogorszyła? Przecież te wartości są korzystne z punktu widzenia technologii produkcji wyrobów z mleka. Owszem niższa zawartość kwasów tłuszczowych o korzystnym dla zdrowia działaniu może wskazywać na obniżenie wartości prozdrowotnej tego mleka.

W „**Streszczeniu**” polskim i angielskim błędnie podano okres stanówki i wykotów w grupie 2 i 3 oraz, że najniższa wydajność mleczna wystąpiła u owiec z implantami melatoniny, kiedy statystyka pokazuje, że nie było różnic w wydajności mlecznej między 2 i 3 grupą owiec. Omyłkowo podano, że laktacja w grupie 3 trwała dłużej niż w grupie 2, ponieważ statystyka nie wykazuje, że różnice są istotne.

UWAGI SZCZEGÓŁOWE

1. Tekst pracy – użycie słowa „światlnego” razem z „dnia” jest zbędne.
2. Str. 5 – proszę sprawdzić nazewnictwo kwasów z tym podawanym w tekście. Tu C10:0 widnieje jako laurynowy a w tekście jako kaprynowy (str. 90), czy C12:0 to nie jest kwas laurynowy? inaczej dodekanowy. Jeżeli tak to lepiej jest zamienić obecną nazwę na laurynowy, ponieważ jako taki występuje w tekście.
3. Str. 7 – właściwe jest użycie odwrotna trijotyronina zamiast rewers trijodotyroniny
4. Str. 17 – zamienić DOPA na DA.
5. Str. 18 – czy chodzi o PrRPs-31? – jest PrPRs; na drodze parakrynej i autokrynej a nie parakrynowej i autokrynowej
6. Str. 19 – czy coś więcej wiadomo o podjednostkach (α i β) receptora prolaktyny ? Szlak sygnałowy JAK2/STAT jest aktywowany jednocześnie „z” szlakiem Ras/Raf/MAP a nie „przez” przez szlak Ras/Raf/MAP
7. Str. 21 – zamiast na drodze parakrynowej powinno być na drodze parakrynej
8. Str. 24 – 6 wiersz powinno być Minakowski i Weidner.
9. Str. 46 – podać jak często pobierano próby mleka.
10. Str. 47 – usunąć zdanie „zapotrzebowanie dzienne zwierząt na sucha masę, energię netto i białko ogólne przedstawiono w tabeli 1” ponieważ tabela taka nie występuje w tekście.
11. Str. 55 – Zbędne jest podpis pod tabelą 3 i wykresem 3 o sposobie oznaczania istotności różnic, kiedy brak takich oznaczeń w tabeli i na wykresie.
12. Str. 57 – w tabeli nie zaznaczono, istotności różnicy między grupą 1 a 2 .
13. Str. 60 – stężenie prolaktyny u owiec Grupy 2 było istotnie wyższe (nie niższe) przy poziomie istotności $P \leq 0,05$ a nie $P \leq 0,01$ -
14. Str. 61 – Niezgodność wyniku prezentowanego w tabeli (grupa 3 z wynikiem na wykresie i w tekście. Czy w tabelce nie został wynik dla prolaktyny?
15. Str. 63 – wg danych z tabeli wystąpiły różnice istotne w wydajności mleka 2-28 między grupą 1 i 3 oraz 2 i 3, to dlaczego w tekście napisano, że istotnie najniższą wydajność mleka stwierdzono u owiec z grupy 3 oraz owiec z grupy 2?
16. Str. 65 – Tabela 8 brak podania w jakich jednostkach była mierzona wydajność mleczna w udojach kontrolnych. Czy określenie różnią się w wierszach jest odpowiednie? Przecież dla grupy 1 nie ma odpowiedniego wiersza z grupy 2 i 3.
17. Str. 68 – Tabela 9. W materiałach i metodach podano, że krew do oznaczeń hormonów była pobierana w 57 dniu laktacji a potem co 28 dni. Dlaczego więc w tej tabeli stężenie

- melatoniny w kwietniu w grupie 1 różni się od stężenia melatoniny podawanego w tabeli 4. Podobnie jest z hormonem wzrostu.
18. Str. 74 – Tabela 12. Uwaga taka sama jak dla tabeli 9. W grupie 2 i 3 podano inne stężenie hormonu wzrostu w sierpniu, niż podawane dla tego okresu na stronie 62 (wynik z 57 dnia laktacji).
 19. Str. 83 – w opisie pod wykresem 17 powinno być w grupach a jest w pobraniach, tak samo w tabeli 17, 19, 20, 21, 22,
 20. Str. 84 – zawartość wapnia podano w mg ale w przeliczaniu na co 100 g, 100 ml?
Podobnie dla fosforu
 21. Str. 88 – % w odniesieniu do całkowitej ilości kwasów tłuszczowych, czy tylko SFA?
W tabeli nie podano z którego udoju analizowano mleko.
 22. Str. 103 – powinno być natomiast krótki (<4 godzin)...w ostatnim akapicie informacje podana w taki sposób, który sugeruje istnienie istotnych różnic w stężeniu hormonu wzrostu między grupami, a takich przecież nie stwierdzono w 6 tygodniu przed wykotem
 23. Str. 105 – w czwartym wierszu 3 w (Grupa 2,3) jest zbędna.
 24. Str. 108 – w czwartym wierszu właściwsze byłoby użycie sformułowania Wyniki te wskazują zamiast „Zatem należy przypuszczać...”
 25. Str. 115 – należy stosować ujednolicony styl prezentacji, np. punkt i wyróżniki lub punkt i podpunkty oznaczone literami.
 26. Str. 118 - w ostatnim zdaniu 1-szego akapitu powinna być podana informacja, że implant melatoniny założono owcom 6 tygodni przed zaplanowanym wykotem w czerwcu.
 27. Str. 119 – Drugi akapit powinno być: nie wykazano istotnych różnic w stężeniu melatoniny u owiec grupy 2 i 3 a jest 1 i 3. Dalej podano, że w 57 dniu laktacji istotnie najniższe stężenie melatoniny stwierdzono u owiec z grupy 2 oraz grupy 3 (obecność implantów melatoniny), podczas gdy wyniki wskazują, że w grupie 3 stężenie melatoniny było istotnie wyższe, niż w grupie 2.
 28. Str. 121 – w tekście angielskim widnieje polskie słowo „wykot” – po angielsku to lambing
 29. Bibliografia - brakuje 10 publikacji (Atti i wsp., 2006; Ackerman i wsp., 2007; Achranowicz i Szary-Sworst 2005; Heanlain 1995; Jondel 1996; Nowak 2004; Molik i wsp., 2006; 2010). Inne braki to Cichoń 2007 – jest 2007b; Ciuryk 1999 - jest 1999a i b; Knight i wsp. 2004 – jest Knight 2004; Lincoln 2006 a – jest b. Spośród 305 publikacji 49 publikacji nie zostało zacytowanych w tekście pracy. Dodatkowo wystąpiły błędy w nazwiskach autorów polskich podręczników: Minakowski i Weidner „Biochemia

kręgowców” – jest Manikowski i Weidner; Sotowska-Brochocka „Fizjologia zwierząt...” – jest Sotowska-Brochacka.

PODSUMOWANIE

W podsumowaniu należy stwierdzić, że wyniki uzyskane przez mgr inż. Michała Błasiaka wzbogacają dotychczasową wiedzę na temat mechanizmów regulujących rozpoczęcie i utrzymanie laktacji w okresie skracającego się dnia u owiec rasy polska owca długowłnista, tj. jednej z krajowych ras owiec użytkowanych mlecznie. Dostarczają również informacji na temat wpływu sterowania okresem laktacji za pomocą długości dnia i implantów melatoniny na długość okresu laktacji, wydajność mleczną oraz skład chemiczny mleka, głównych parametrów decydujących o opłacalności mlecznego użytkowania owiec.

WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawiona do oceny praca mgr Michała Błasiaka pt. ”Wpływ egzogennej melatoniny i długości dnia na sekrecję i skład chemiczny mleka owiec”, niezależnie od wyszczególnionych uchybień i komentarzy, spełnia wszystkie wymagania – określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki – stawiane pracom doktorskim i w związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie z wnioskiem o dopuszczenie mgr Michała Błasiaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

