

Prof. dr hab. n. farm. inż. Grzegorz BAZYLAK, prof. nadzw. UMK

Katedra i Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny,
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
ul. Jagiellońska 13, PL-85-067 BYDGOSZCZ
Tel: (+4852) 585-3994; Tel. mobil: 516-389-773;
E-mail: gbazylak@cm.umk.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Grażyny SILSKIEJ pt.:

„Wpływ zdrowotny i ocena zawartości kwasów tłuszczowych nasion z kolekcji zasobów genetycznych *Linu* zwyczajnego (*Linum usitatissimum* L.)”,

wykonanej w Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu
i przedłożonej Radzie Naukowej Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie

Podstawą przygotowania recenzji jest pismo prof. nadzw. dr hab. n. med. Lecha Panasiuka
dyrektora Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie z dn. 01.10.2019 r.

1]. Znaczenie badań podjętych w rozprawie

Temat badań przedstawionych w rozprawie mgr inż. Grażyny SILSKIEJ uważam za niezwykle znaczący i aktualny, gdyż nawiązuje do dominujących współcześnie zagadnień tzw. kultury terapeutycznej, która propaguje kult zdrowia, podziwu dla sprawności, powrót do naturalnego życia, a co w konsekwencji wywołuje nadzwyczajną determinację w walce z innymi naturalnymi procesami, takimi jak starzenie się, utrata sprawności, kalectwo, osłabienie odporności, przewlekłe choroby czy śmierć. Już 25 lat temu w Stanach Zjednoczonych AP odsetek osób dorosłych wykorzystujących naturalne metody leczenia wynosił 37%, a co szósty mieszkaniec tego kraju w wieku 40-60 lat stosował wówczas regularnie preparaty immunostymulujące z jeżówki lub żeń-szenia.

Tymczasem według danych Głównego Urzędu Statystycznego już w 2107 roku odsetek osób w wieku 60 lat i więcej stanowił w populacji polskiej 24,5%, czyli 9,3 mln, a prognozy demograficzne wskazują, że w roku 2030 aż 53,3% gospodarstw domowych będzie prowadzonych przez osoby w wieku co najmniej 65 lat i powyżej. W tej sytuacji koszty organizacji i utrzymania powszechnie dostępnej opieki zdrowotnej przekroczyły już dawno zdolności finansowe państwa, dlatego konieczne jest wspieranie wszelkich działań, w tym badań naukowych i ich komercjalizacji, które przyczyniają się do zwiększenia profilaktyki i wczesnego wykrywania rozmaitych dietozależnych chorób cywilizacyjnych, przede wszystkim nowotworowych, neurodegeneracyjnych, układu krążenia i geriatrycznych. W ramach wspomnianego trendu kulturowego obserwujemy zatem nie tylko w Polsce powrót do wspomagania naturalnych procesów regeneracyjnych, naturalnych metod leczenia i wykorzystania tradycyjnych surowców roślinnych w profilaktyce i terapii, ale także w żywieniu człowieka i hodowli zwierząt.

Jednym z takich ponownie odkrytych surowców roślinnych są nasiona *Linu* i tłoczony z nich olej *liniany*, które wykazują dobre właściwości odżywcze, a przede wszystkim zawierają duże ilości kwasów alfa-linolenowego i linolowego zaliczanych do niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych NNKT. Pomimo tego, że nasiona *Linu* zawierają od 0,1 do 1,5% substancji antyodżywczych (glikozydy cyjanogenne, linatyna - antywitamina B₆, taniny) to wprowadzenie do diety człowieka nierafinowanego tłoczonego na zimno oleju *linianego* znajduje zastosowanie w profilaktyce i leczeniu miażdżycy, alergii, dermatozy, depresji, demencji i zmian nowotworowych. Podobnie wprowadzenie do paszy laktujących przeżuwaczy (owce, kozy, krowy) oleju *linianego*, nasion *Linu* lub ekstraktu siemienia *linianego* powoduje wzrost walorów prozdrowotnych tłuszczu mleka, które wykazuje wtedy zwiększony potencjał antyoksydacyjny wskutek wzrostu ilości sprzężonych dienów kwasu linolowego CLA. W ten sposób szybko rozszerza się oferta wysokiej jakości i łatwo dostępnej

żywności funkcjonalnej, żywności leczniczej, nutraceutyków, suplementów diety, kosmeceutyków i środków opatrunkowych wykorzystujących nasiona lnu i jego składniki.

Ścisły związek podjętych przez Doktorantkę wieloletnich, pracochłonnych i kompleksowych badań dotyczących selekcjonowania, warunków uprawy, morfologii i oznaczania składu nasion różnych genotypów oleistych odmian lnu zwyczajnego z nauką o zdrowiu nie budzi zatem wątpliwości.

2]. Ocena układu redakcyjnego rozprawy

W przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej liczącej ogółem 167 stron (w tym 21 bez numeracji) można wyróżnić trzy zasadnicze części, które obejmują: 1) wykaz symboli, wstęp, cel badań, metodykę, omówienie wyników, podsumowanie, streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz 10 publikacji będących podstawą rozprawy oraz wykaz innych 19 publikacji własnych tematycznie powiązanych z rozprawą (łącznie 28 stron), 2) reprinty tekstów 10 publikacji tworzących podstawę rozprawy (łącznie 110 stron); 3) oświadczenia Doktorantki (10 stron) oraz oświadczenia 8 współautorów (11 stron) o ich udziale w 6 publikacjach wieloautorских wchodzących w skład rozprawy.

Wstęp rozprawy, który wraz ze skromną bibliografią zawierającą 33 pozycje liczy 9 stron tekstu, stanowi bardzo zwarte opracowanie danych literaturowych z lat 1999-2019 oraz szczegółową charakterystykę podjętych w rozprawie problemów związanych z ochroną występujących w Polsce wysokolinolenowych odmian lnu zwyczajnego i koniecznością opracowania zestawu deskryptorów opisujących ich cechy morfologiczne, biologiczne, rolnicze i jakościowe.

W pierwszym rozdziale rozprawy (1 strona tekstu) zaprezentowano główne założenia i cel badań, które koncentrują się wokół oceny ważnych cech użytkowych, ich zróżnicowania i współzależności, a przede wszystkim określenia profilu i zawartości kwasów tłuszczowych NNKT w nasionach różnych tzw. oleistych, włóknistych i przejściowych odmian lnu zwyczajnego zgromadzonych w polskiej kolekcji zasobów genetycznych tej rośliny. Hipotezę badawczą było według Doktorantki założenie, iż postępowanie takie może stanowić podstawę do ustalenia wiarygodnego i odtwarzalnego kryterium selekcjonowania najcenniejszej polskiej odmiany lnu, która będzie optymalna ze względu na warunki uprawy i zwiększone dla konsumenta korzyści prozdrowotne, a przez to atrakcyjna dla plantatorów oraz producentów nutraceutyków i żywności funkcjonalnej. Celem tego wieloletniego projektu było także to, aby uzyskany w ten sposób zestaw parametrów charakteryzujących bioróżnorodność badanych przez Doktorantkę nasion 123 odmian lnu oleistego i włóknistego, jakie przechowywane są w banku nasion Krajowego Centrum Roślinnych Zasobów Genowych IHAR w Radzikowie, mógł być umieszczony formie enkryptowanej w Międzynarodowej Bazie Danych Odmian Lnu (IFDB).

W kolejnym punkcie rozprawy zatytułowanym „Ogólna metodyka badań” (1 strona tekstu) Doktorantka w sposób krótki i zwięzły opisała materiał badawczy w postaci 1) starych wyrejstrowanych odmian lnu, 2) rodów zaawansowanych lnu, 3) odmian zebranych ze stanu naturalnego i 4) odmian będących obecnie w uprawie. W lakonicznym opisie wykonanych analiz, które obejmowały 1) pomiar 6 cech morfologicznych nasion według zaleceń IFDB, 2) oznaczenie tłuszczu ogółem w nasionach metodą spektrometrii w bliskiej podczerwieni NIR, 3) oznaczenie w oleju z nasion lnu zawartości 5 kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej GC. O ile dobór tych nowoczesnych instrumentalnych metod analizy do założonych celów rozprawy należy uznać za w pełni adekwatny i uzasadniony, to fakt, że nie podano w tym punkcie szczegółowych warunków ekstrakcji, derywatywacji, kalibracji i detekcji, a także pominięto opis parametrów pracy stosowanej aparatury oraz brak jest określenia precyzji wykonanych oznaczeń, uważam za istotny błąd redakcyjny.

W punkcie zatytułowanym „Omówienie podstawowych wyników”, który obejmuje 8 stron, znajduje się minimalistyczny komentarz oraz 8 tabel, z których dwie (Tabela VII i VIII) przedstawiają wartości minimalne i maksymalne, odpowiednio, każdego z 6 parametrów morfologicznych (dla 90 badanych odmian lnu) oraz zawartości 5 kwasów tłuszczowych (dla 123 badanych odmian lnu). W

tabelach od I do VII podane są odsyłacze do oryginalnych artykułów Doktorantki z lat 2012-2018 dotyczących badań nasion lnu (łącznie 90 odmian lnu). Natomiast w Tabeli VIII, dotyczącej zawartości kwasów tłuszczowych w 123 odmianach lnu, brak jest takiego odsyłacza do opublikowanych prac własnych. Szkoda, że Doktorantka nie wyjaśniła w tym punkcie rozprawy, jakie były przyczyny tak dużej różnicy w ilości odmian lnu, które zostały ujęte w badaniach morfologicznych (90 odmian) i badaniach składu kwasowego (123 odmiany). Brak jest w tym miejscu jasnego określenia, które odmiany lnu zostały uwzględnione w obu etapach wykonywanych oznaczeń. W żadnej z omawianych tabel nie podano wyników oznaczeń tłuszczu ogółem, informacja ta (jedno zdanie) znajduje się dopiero na stronie 27 w punkcie zatytułowanym „Podsumowanie głównych wyników”, który obejmuje 1 stronę. W tabeli dotyczącej wyników analizy kwasów tłuszczowych brak jest danych dotyczących zmienności wzajemnej proporcji kwasów alfa-linolenowego i linolowego (tzw. stosunek kwasów omega-6/omega-3) dla całej grupy 123 badanych odmian lnu. Szczątkowa informacja o tym niezwykle ważnym dla oceny jakości prozdrowotnej oleju lnianego parametrze znajduje się tylko na str. 27.

W kolejnym punkcie rozprawy pod tytułem „Ogólna ocena zmienności...” (1 strona tekstu) Doktorantka przedstawiła w 5 punktach najważniejsze ustalenia dotyczące zdolności plonowania badanych przez nią odmian lnu w powiązaniu ze zmiennością ich cech fenotypowych, wyspecyfikowanych w punkcie rozprawy pt. „Wyniki”. Sposób sformułowania tych wniosków budzi jednak wątpliwości, gdyż autorka nie tylko, że nie powołuje się w nich na jakiegokolwiek dane pomiarowe i statystyczne, chociaż mówi o „wysokiej dodatniej korelacji”, ale także nie odwołuje się do żadnego z artykułów zawierających opublikowane wyniki badań, oraz nie wskazuje do jakich konkretnych odmian lnu jej tautologiczne i deklaratywne rozważania się odnoszą.

Najbardziej istotnym i przekonującym wydaje się być początek wniosku nr 5, w którym autorka stwierdza, że „plon nasion lnu uprawnego determinowany był ujemnie przez wysokość rośliny” (str. 29). Prawidłowo i celnie sformułowane wnioski w tym zakresie zawarte są w na stronie 47 artykułu nr 5 (Silska G., et al., Pol. J. Agronomy, 2014, 17, 39-47), stanowiącego podstawę omawianej rozprawy (por. wykaz str. 14 i 30), gdzie Doktorantka stwierdza, że (cytuje): „genotypy lnu o wiekach wyprostowanych i skupionych będą bardziej przydatne do hodowli odmian włóknistych natomiast te o wiekach wyprostowanych i rozpięzchłych do hodowli odmian oleistych” (koniec cytatu).

W pięciopunktowym „Podsumowaniu”, zawartym na stronach 141/142 rozprawy i niezbyt fortunnie umieszczonym dopiero za obszernym 110 stronicowym blokiem reprintów 10 artykułów oryginalnych stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, autorka w sposób zwięzły wskazała na najważniejsze osiągnięcia poznawcze oraz implikacje praktyczne wykonanych przez nią badań, szczególnie dla propagowania uprawy wysokolinolenowych odmian lnu, tworzenia ich krzyżówek, oraz ich zastosowania w żywieniu ludzi i zwierząt, a przez to wspomaganie profilaktyki dietozależnych chorób cywilizacyjnych w populacji polskiej.

3]. Ocena merytoryczna rozprawy

Zastosowany w omawianej rozprawie niezbyt konsekwentny układ redakcyjny, w którym zrezygnowano z opracowania szczegółowej dyskusji uzyskanych wyników wskazuje na to, że główną częścią (110 stron) tej dysertacji miał być załączony monotematyczny cykl 10 publikacji oryginalnych Doktorantki z lat 2012-2019, których wykaz umieszczono aż dwukrotnie na str. 14 oraz 30.

Wśród tych publikacji 6 stanowią artykuły wieloautorskie, a tylko w 4 artykułach Doktorantka jest jedynym autorem. W języku angielskim opublikowano 4 artykuły, w takich cenionych i wysoko punktowanych czasopismach krajowych o zasięgu międzynarodowym jak „Rośliny Oleiste - Oilseed Crops”, „Journal of Pre-Clinical and Clinical Research”, „Herba Polonica” oraz czasopiśmie amerykańskim „Biomedical Journal of Scientific & Technical Research”. Natomiast 6 artykułów polskojęzycznych z tego cyklu zostało opublikowanych w takich czasopismach jak „Polish Journal of Agronomy”, „Biuletyn IHAR”, „Zagadnienia Doradztwa Rolniczego”, „Rośliny Oleiste - Oilseed Crops”. Łączna punktacja tych 10 publikacji (wg wykazu czasopism punktowanych z lat 2015-2018) wynosi 93

pkt MNiSzW oraz 0,548 pkt impaktowych, co stanowi 47% wartości punktowej całego bogatego dorobku publikacyjnego Doktorantki w ciągu 31 lat pracy naukowo-badawczej w Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu (por. wykaz na str. 15-16). Współautorami wspomnianych 6 publikacji są pracownicy oddziałów zamiejscowych IWNiRZ w Poznaniu, IHiAR w Radzikowie, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu i Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

O ile w części opisowej Doktorantka najpierw omawiała najpierw problem określenia fenotypowych cech morfologicznych Inu zwyczajnego a następnie znaczenie składu kwasów tłuszczowych w olejach Inianych, to nie wykazała tej samej konsekwencji w ustalaniu tematycznej kolejności reprintowanych 10 artykułów. Na początku cyklu reprintów zostały bowiem umieszczone trzy artykuły z lat 2017-2019 (nr 2,3,4 wykazu na str. 14) omawiające wyniki analizy zawartości 5 kwasów tłuszczowych w olejach z nasion reprezentatywnych genotypów Inu przechowywanych w banku nasion IHiAR w Radzikowie. Liczba odmian Inu poddana takiej analizie składu kwasowego była zmienna i wynosiła: 9 odmian Inu w artykule nr 2 (rok 2017), 14 odmian Inu w artykule nr 3 (rok 2019) i 84 odmiany Inu w artykule nr 4 (rok 2019), co łącznie daje 107 przebadanych odmian Inu, które (prawdopodobnie) wysiewano w trzech powtórzeniach w dwuletnim doświadczeniu polowym. Wyniki tych analiz dowiodły, że badane genotypy Inu uprawnego należały do odmian wysokolinolenowych, gdzie zawartość kwasu alfa-linolenowego w uzyskanych olejach wynosiła od 48,4% do 58,9%. Należy z ogromną satysfakcją podkreślić, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki nt. profilu kwasów tłuszczowych w olejach Inianych są pod wieloma względami prekursorskie i oryginalne, poszerzając znakomicie dotychczasową wiedzę o właściwościach prozdrowotnych i leczniczych tych związków oraz olejów Inianych. Warto także zwrócić uwagę na to, że przedstawiona w tych artykułach dyskusja uzyskanych wyników analiz jest szczegółowa i wielowątkowa oraz umiejętnie łączy aspekty analityczne, agrotechniczne, żywieniowe i genetyczne, które dotyczą nasion Inu zwyczajnego.

W kolejnych 5 publikacjach (nr 1, 5, 6, 7, 8 wykazu na str. 14) autorka przedstawia szczegółowe wyniki dotyczące cech morfologicznych reprezentatywnych genotypów Inu, jakie znajdują się w kolekcji gatunków roślin uprawnych Polskiego Banku Genów (PBG). Prace te nie tylko służyły określeniu wartości i zmienności tych cech morfologicznych ale także ustaleniu i weryfikacji nowych, dotąd nieokreślonych deskryptorów morfologicznych i botanicznych dla Inu zwyczajnego jak np. wielkość kwiatu, wielkość torebki oraz orzęsienie przegród w torebce (por. artykuł nr 8 z 2013 roku). Oceniano także w tych badaniach oporność na wyleganie i fuzariozy, długość okresu wegetacji od siewu do dojrzałości żółtej Inu. Uzyskane w ten sposób przez Doktorantkę wyniki stanowią z pewnością istotny wkład w rozwój wiedzy o fazach rozwojowych Inu zwyczajnego, jego podatności na rozmaite zabiegi agrotechniczne, ale także stymulują podjęcie dalszych innowacyjnych prac na temat hybrydyzacji odmian Inu.

W ostatnie dwóch publikacjach (nr 9 i 10 wykazu na str. 14) Doktorantka przedstawia wyniki zastosowania statystycznych metod analizy korelacyjnej oraz metod statystyki wielowymiarowej do interpretacji zebranych fenotypowych danych morfologicznych w kontekście wielkości plonu nasion i ogólnej zawartości tłuszczu w nasionach reprezentatywnych 18 (jak artykule nr 9) oraz 49 (jak w artykule nr 10) krajowych genotypów Inu wybranych z kolekcji PBG. Analizy takie umożliwiają oszacowanie opłacalności ekonomicznej uprawy poszczególnych odmian Inu. Metodami regresji wielokrotnej z procedurą eliminacji zmiennych niezależnych udowodniono występowanie nieznanych dotychczas relacji pomiędzy plonem nasion i średnicą łodygi dla wysokolinolenowych odmian Inu. Podobnie zastosowanie wielowymiarowej analizy wariancji pozwoliło na ustalenie, że plon nasion ze starych odmian Inu (omówionych w artykule nr 7 wykazu na str. 14) nie są w pełni uzależnione od obserwowanych zmian fenotypowych. Wyniki uzyskane przez Doktorantkę stanowią zatem niewątpliwie nowy i oryginalny wkład do opartych o wieloczynnikowe modele predykcyjne współczesnych metod selekcjonowania odmian roślin uprawnych (w tym Inu zwyczajnego) i optymalizowania warunków ich uprawy.

Reasumując, należy stwierdzić, że przedstawiony jako podstawa rozprawy doktorskiej cykl 10 publikacji charakteryzuje się wysokim poziomem naukowym i dowodzi, że mgr inż. Grażyna SILSKA zrealizowała pomyślnie założone cele badawcze. Z dużym przekonaniem można stwierdzić, że uzyskane przez Doktorantkę rezultaty badań na temat genotypów Inu zwyczajnego z kolekcji PBG posiadają wysokie wartości poznawcze jak i praktyczne oraz stanowią dobrą podstawę do dalszych prac w tym zakresie.

4j. Podsumowanie

Pomimo zgłoszonych przeze mnie z obowiązku recenzenta kilku zastrzeżeń i wątpliwości, które nie umniejszają wartości merytorycznej omawianej dysertacji, stwierdzam, że przedłożona rozprawa doktorska mgr inż. Grażyny SILSKIEJ w istotnym stopniu spełnia wymagania ustawowe określone w art. 13 ustawy z dnia 14.03.2003 r. (*Dz.U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm. o stopniach naukowych oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki Dz. U. z 2017 r. poz. 1789*), tzn. stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wykazuje szeroką wiedzę doktorantki o sposobach pozyskiwania i metodach analizy roślinnej żywności funkcjonalnej, żywieniu człowieka, dietetyce i profilaktyce chorób dietozależnych oraz potwierdza jej znaczne umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych w tym zakresie, dlatego wnoszę o dopuszczenie mgr inż. Grażyny SILSKIEJ do dalszych etapów przewodu doktorskiego prowadzonego w Instytucie Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie w celu uzyskania (według klasyfikacji zawartej w *Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 r.*) stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu.

Z wyrazami głębokiego szacunku i poważania,



Prof. dr hab. n. farm. inż. Grzegorz BAZYLAK