

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Damiana Bienia pt. „Wpływ różnych form selenu i ekstraktu z konopi siewnej (*Cannabis sativa* L.) na wyniki odchowu oraz jakość mięsa kurcząt brojlerów”, wykonanej w Instytucie Nauk o Zwierzętach Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, pod kierunkiem Pani dr hab. inż. Moniki Michalczuk, prof. SGGW

Recenzja została opracowana na podstawie otrzymanego egzemplarza pracy doktorskiej mgr inż. Damiana Bienia. Podstawą formalną do wykonania recenzji było pismo Pana dr hab. Marcina Gołębiewskiego, prof. SGGW, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo SGGW w Warszawie, z dnia 4 lipca 2024 roku (RDZiR-5/2024; INoZ.5100.3.2024) z informacją, o powołaniu mnie na recenzenta przez Radę Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo SGGW w Warszawie.

Rozprawa doktorska opracowana przez Pana mgr inż. Damiana Bienia pt. „Wpływ różnych form selenu i ekstraktu z konopi siewnej (*Cannabis sativa* L.) na wyniki odchowu oraz jakość mięsa kurcząt brojlerów” obejmuje trzy powiązane tematycznie, wieloautorskie publikacje naukowe, tj.:

1. **Bień D., Michalczuk M., Łysek-Gładysińska M., Józwick A., Wieczorek A., Matuszewski A., Kinsner M., Konieczka P. 2023.** Nano-sized selenium maintains performance and improves health status and antioxidant potential while not compromising ultrastructure of breast muscle and liver in chickens. *Antioxidants*, 12(4), 905.
2. **Bień D., Michalczuk M., Szkopek D., Kinsner M., Konieczka P. 2022.** Changes in lipids metabolism indices as a result of different form of selenium supplementation in chickens. *Scientific Reports*, 12, 1-11.
3. **Bień D., Michalczuk M., Józwick A., Matuszewski A., Konieczka P. 2024.** Effects of *Cannabis sativa* extract on growth performance, meat physicochemical properties, and oxidative status in chickens challenged with *Clostridium perfringens* and lipopolysaccharide. *Animal Science Papers and Reports*, 42, 81-108.

Łączny IF publikacji stanowiących rozprawę doktorską wynosi 12,6, a łączna liczba punktów, wg. ministerialnego wykazu czasopism punktowanych wynosi 380. We wszystkich publikacjach wchodzących w skład rozprawy Doktorant był pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym. Indywidualny wkład Doktoranta w przygotowanie poszczególnych publikacji, wg. zamieszczonych w pracy deklaracji oraz oświadczeń Współautorów był wiodący i wynosił 70% (praca 1.) oraz 80% (praca 2. i 3.). Autor uczestniczył w powstaniu każdej z prac na różnych etapach jej realizacji, m.in. w projektowaniu doświadczeń, w prowadzeniu badań, gromadzeniu i opracowaniu statystycznym wyników oraz redagowaniu manuskryptu i jego korekcie po recenzji, co jest wyrazem jego dobrego przygotowania do pracy naukowej. Wszystkie prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej były recenzowane i uzyskały pozytywne opinie niezależnych recenzentów przed ich opublikowaniem w wysoko punktowanych czasopismach co potwierdza ich znaczącą wartość naukową.

Tematyka rozprawy przedłożonej do recenzji mieści się w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie zootechnika i rybactwo, wpisuje się w ważne i aktualne zagadnienia badawcze związane z oceną mechanizmu i efektywności działania substancji bioaktywnych wchodzących w skład dodatków paszowych, jest interesująca i ważna zarówno pod względem poznawczym jak i aplikacyjnym. Na aktualność podjętej tematyki badań oraz ich wysoki poziom merytoryczny i naukowy wskazuje również renoma czasopism naukowych, w których wyniki badań zostały opublikowane.

Rozprawa doktorska przedłożona do recenzji w formie papierowej liczy 75 stron znormalizowanego wydruku komputerowego, opracowanego zgodnie z ogólnymi wymogami stawianymi pracom doktorskim. **Układ pracy** przedłożonej do recenzji jest poprawny i zawiera: stronę tytułową, streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, objaśnienie zastosowanych skrótów, wstęp, hipotezy badawcze, cel i zakres pracy, materiał i metody, omówienie głównych wyników prac eksperymentalnych, wnioski, zalecenia praktyczne, oraz bibliografię. Ponadto w przedłożonej pracy zamieszczono kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy oraz oświadczenia Współautorów o ich udziale w badaniach i przygotowaniu publikacji składających się na rozprawę doktorską mgr. inż. Damiana Bienia. Oceniana rozprawa doktorska została napisana poprawnym językiem, cechuje ją spójność i poprawność w zakresie treści zawartych, w poszczególnych rozdziałach. Nieliczne błędy redakcyjne i nieścisłości nie umniejszają wartości merytorycznej pracy i nie mają istotnego wpływu na jej ostateczną ocenę.

W rozdziale **Streszczenie** Doktorant zwrócił uwagę na selen oraz kannabinoidy z konopi włóknistych, jako substancje o istotnym znaczeniu dla utrzymania homeostazy w organizmie kurcząt i przytoczył główne wyniki swoich badań dotyczące ich wpływu na wyniki odchowu oraz jakość mięsa kurcząt brojlerów.

W rozdziale **Wstęp** Autor przedstawił aktualny stan wiedzy naukowej z zakresu podejmowanych przez niego badań, zwrócił uwagę na rolę i możliwości wykorzystania selenu oraz kannabinoidów z konopi siewnej dla poprawy statusu immunologicznego, wyników produkcyjnych oraz jakości mięsa kurcząt brojlerów. Rozdział ten został opracowany na podstawie właściwie dobranych pozycji piśmiennictwa i wskazuje na dobre przygotowanie Doktoranta do realizacji badań eksperymentalnych oraz interpretacji wyników badań.

W rozdziale **Hipotezy badawcze, cel i zakres pracy** Autor przyjął dwie hipotezy badawcze, które zweryfikował w ramach dwóch doświadczeń. Hipoteza 1. zakładała, że zastosowanie różnych form selenu w ilości 0,5 mg/1000 g paszy wpływa pozytywnie na wyniki odchowu i jakość mięsa kurcząt brojlerów. W hipotezie 2. przyjęto, że zastosowanie ekstraktu z konopi siewnej (*Cannabis sativa* L.) będącego źródłem kannabidiolu w ilości 30 g/1000 g paszy wpływa pozytywnie na wyniki odchowu i jakość mięsa kurcząt brojlerów, w warunkach indukowanego stanu zapalnego. Przyjęte hipotezy Autor zweryfikował w dwóch doświadczeniach, które wyczerpująco opisał w rozdziale **Materiał i metody**. Celem pracy podjętej przez Doktoranta było określenie wpływu różnych form selenu w ilości 0,5 mg/1000 g paszy i ekstraktu z konopi siewnej (*Cannabis sativa* L.) w ilości 30 g/1000 g paszy, w warunkach indukowanego stanu zapalnego na wyniki odchowu i jakość mięsa kurcząt brojlerów. Przyjęcie hipotez, sformułowanie celu i zakresu pracy jest poprawne.

W rozdziale **Materiał i metody** Doktorant przedstawił zastosowane w pracy metody badawcze, odrębnie dla doświadczenia I. i II. Układ przeprowadzonych doświadczeń był prawidłowy, dobór ptaków oraz zastosowane metody badawcze i procedury analityczne zostały przeprowadzone poprawnie, a ich opis zamieszczony w pracy jest wystarczający. W metodyce doświadczenia I., Pan mgr inż. Damian Bień scharakteryzował wszystkie trzy formy selenu wykorzystane w badaniach, przedstawił graficznie układ przeprowadzonego doświadczenia, zamieścił charakterystykę kurcząt przeznaczonych do badań oraz mieszanek paszowych stosowanych w ich żywieniu, opisał metodykę uboju i analizy rzeźnej oraz metodykę badań składu chemicznego i parametrów fizykochemicznych mięśni piersiowych, wątroby i surowicy krwi, metodykę analizy ultrastruktury mięśnia piersiowego i wątroby kurcząt oraz metody statystyczne wykorzystane do weryfikacji uzyskanych wyników badań. W opisie metod badawczych zastosowanych w doświadczeniu II. Doktorant dokonał charakterystyki składu

chemicznego ekstraktu z konopi siewnej (*Cannabis sativa* L.) będącego źródłem kannabidiolu, scharakteryzował kurczęta brojlery i mieszanki paszowe zastosowane w ich żywieniu, zamieścił schemat układu przeprowadzonego doświadczenia z zastosowaniem dodatku ekstraktu z konopi siewnej będącego źródłem kannabidiolu, dokonał charakterystyki grup doświadczalnych oraz sposobu indukowania stanu zapalnego, przedstawił metodykę uboju i pobierania prób do analiz, metodykę oceny wydajności rzeźnej, składu chemicznego mięśnia piersiowego i wątroby oraz właściwości fizykochemicznych mięśnia piersiowego, wątroby i krwi oraz właściwości przeciwutleniających mięśnia piersiowego i wątroby, opisał także metody analizy statystycznej wykorzystane w weryfikacji uzyskanych wyników badań. Po zapoznaniu się z treścią poszczególnych podrozdziałów tej części pracy mogą stwierdzić, że mgr inż. Damian Bień dokonał odpowiedniego doboru materiału badawczego, poprawnie zaplanował doświadczenia, zastosował odpowiednie, nowoczesne techniki badawcze, opanował metodykę wielu badań laboratoryjnych.

W rozdziale **Omówienie głównych wyników prac eksperymentalnych** Autor poprawnie, choć tylko opisowo przedstawił najważniejsze wyniki badań uzyskane w obydwu doświadczeniach i skonfrontował je z wynikami badań uzyskanych i opublikowanych przez innych badaczy w specjalistycznych czasopismach naukowych. Uzyskane wyniki badań przeprowadzonych przez Doktoranta uważam za interesujące naukowo i ważne aplikacyjnie. Szkoda jednak, że w tym rozdziale Doktorant nie zdecydował się na zamieszczenie zbiorczych tabel/tabeli lub rycin/ryciny z najważniejszymi wynikami badań. Przedstawiając tylko opis poszczególnych wyników (bez odnośników do stosownych tabel), Autor „zmusza” czytelnika do czasochłonnego szukania wyników w oryginałach publikacji, co jest znaczną uciążliwością. W doświadczeniu I. stwierdzono, że dodatek do paszy różnych form selenu (selenian sodu, nano-Se, drożdże selenowe) nie pogorszyło wyników odchowu kurcząt, ani właściwości fizykochemicznych mięśnia piersiowego. Nie odnotowano również niekorzystnego wpływu badanych, form selenu na cechy fizykochemiczne ani ultrastrukturę mięśni piersiowych i wątroby. Zastosowanie nano-Se w ilości 0,5mg/1000g spowodowało wydłużenie sarkomerów w mięśniach piersiowych, zmniejszenie stopnia uszkodzenia mitochondriów w hepatocytach i zwiększenie właściwości oksydacyjnych wątroby. Wykazano również, że dodatek do paszy selenu w postaci selenianu sodu (0,3 mg/1000 g) spowodował zwiększenie koncentracji selenu w wątrobie, dodatek drożdży selenowych (0,5 mg/1000 g paszy) zwiększył koncentrację Se w mięśni piersiowym natomiast zastosowanie selenu w formie nanocząstek (0,5 mg/1000 g) spowodowało wzrost zawartości kwasów PUFA w mięśniach piersiowych. W doświadczeniu II. stwierdzono, że dodatek do paszy ekstraktu z konopi siewnej (*Cannabis*

sativa L.) będącego źródłem kannabidiolu, w ilości 30 g/1000 g paszy miał wpływ na zwiększenie masy ciała kogutków w 35. dniu odchowu, bez negatywnego wpływu na wyniki analizy rzeźnej. Dodatek ekstraktu z konopi siewnej do paszy nie zwiększył też śmiertelności kurcząt ani wskaźnika konwersji paszy; suplementacja nie miała wpływu na parametry fizykochemiczne ani skład mięśnia piersiowego i wątroby, wywołała jednak zwiększenie stosunku kwasów n-6/n-3. Ponadto parametry biochemiczne krwi kurcząt otrzymujących paszę z dodatkiem ekstraktu z konopi siewnej, w warunkach indukowanego stanu zapalnego utrzymywały się na właściwym poziomie. Uważam, że rozdział „Omówienie głównych wyników prac eksperymentalnych” został przez Autora opracowany prawidłowo. Doktorant porównał uzyskane przez siebie wyniki badań z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy i podjął się też własnej interpretacji uzyskanych wyników badań, co świadczy o jego dobrym przygotowaniu do pracy badawczej. Uważam, że wyniki badań zawarte w cyklu publikacji składających się na pracę doktorską Pana mgr inż. Damiana Bienia stanowią istotny wkład w rozwój dyscypliny zootechniki i rybactwo.

W rozdziale **Wnioski** Doktorant zamieścił sześć wniosków z przeprowadzonego doświadczenia pierwszego i cztery wnioski z doświadczenia drugiego, które wynikają z przeprowadzonych badań. Uważam, że bardziej trafnym tytułem tego rozdziału byłby tytuł „Stwierdzenia i wnioski”, gdyż część sformułowań zamieszczonych jako wnioski ma charakter stwierdzeń a nie wniosków.

Oprócz wniosków, w rozdziale **Zalecenia praktyczne**, mgr inż. Damian Bień sformułował trzy zalecenia dla producentów pasz i drobiu, w których podaje, że: 1). Zastosowanie w żywieniu kurcząt brojlerów dodatku selenu do paszy w formie nanocząstek, w ilości 0,5 mg/1000 g może ograniczyć występowanie miopatii mięśnia piersiowego; 2). mięso drobiowe o podwyższonej zawartości selenu może skutecznie ograniczyć niedobór selenu w diecie Polaków, stanowiąc element żywności funkcjonalnej; 3). zastosowanie ekstraktu z konopi siewnej (*Cannabis sativa* L.) w ilości 30 g/1000 g paszy łagodzi negatywne skutki stanu zapalnego w organizmie, co przekłada się na poprawę stanu zdrowia ptaków, bez negatywnego wpływu na jakość tuszek.

W rozdziale **Bibliografia** Autor zamieścił 130 pozycji piśmiennictwa, w zdecydowanej większości anglojęzycznego. Dobór piśmiennictwa jest poprawny. Pozycje, na które powołuje się Doktorant są aktualne, (48% przytoczonych prac opublikowano w ostatnich dziesięciu latach) i związane z podjętą tematyką badawczą, co potwierdza jego umiejętność korzystania ze światowych zasobów specjalistycznego piśmiennictwa naukowego.

Uwagi i pytania do Doktoranta

W końcowej części recenzji, pragnę podzielić się uwagami/pytaniem, które nasunęły mi się w czasie czytania pracy i nie są zarzutami, lecz mogą być sygnałem do dyskusji w czasie obrony pracy bądź inspiracją do dalszych badań:

1. Jak Doktorant rozumie pozytywny wpływ kannabinoidów oraz selenu na układ pokarmowy kurcząt poprzez „działanie mechaniczne”? (*Wstęp, str. 20*)
2. Zalecenia dla praktyki opracowane przez Doktoranta uważam za zasadne i niezwykle cenne jednak mam następujące pytania:
 - Czy zdaniem Doktoranta przeprowadzone badania uprawniają do jednoznacznego stwierdzenia, że zastosowanie ekstraktu z konopi siewnej „może zastępować podawanie leków”? (*Zalecenia praktyczne, pkt.3, str. 56*)?
 - Czy zdaniem Doktoranta nie byłoby zasadne uzupełnienie zaleceń dla praktyki analizą efektywności ekonomicznej podjętych działań?

Podsumowanie i wniosek końcowy

Pracę doktorską Pana mgr inż. Damiana Bienia pt. „Wpływ różnych form selenu i ekstraktu z konopi siewnej (*Cannabis sativa* L.) na wyniki odchowu oraz jakość mięsa kurcząt brojlerów” oceniam pozytywnie. Doktorant poprawnie sformułował i zweryfikował hipotezy badawcze, zrealizował cel badań i uzyskał wyniki o istotnej wartości merytorycznej oraz dużej wartości aplikacyjnej. Publikacje wchodzące w skład rozprawy istotnie poszerzają wiedzę na temat możliwości wykorzystania różnych form selenu i kannobidiolu dla utrzymania wysokiej produktywności i uzyskania dobrej jakości mięsa w warunkach stanu zapalnego.

Wyrażam opinię, że przedstawiona do oceny praca doktorska Pana mgr inż. Damiana Bienia pt. „Wpływ różnych form selenu i ekstraktu z konopi siewnej (*Cannabis sativa* L.) na wyniki odchowu oraz jakość mięsa kurcząt brojlerów”, spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim i odpowiada warunkom określonym w artykule 187 z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz.U. z 2023 r. poz.742 ze zm.). Wnoszę zatem do Rady Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie mgr inż. Damiana Bienia do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

