



SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO W WARSZAWIE
WYDZIAŁ NAUK O ŻYWIENIU CZŁOWIEKA I KONSUMPCJI

Warszawa 29 lipca 2019

dr hab. Ewelina Hallmann

Katedra Żywności Funkcjonalnej,

Ekologicznej i Towaroznawstwa

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Izabeli Podgórskiej-Kryszczuk

„Drożdże jako czynnik ograniczania grzybów z rodzaju *Fusarium* w żywności”

promotor pracy: prof. dr hab. Ewa Solarska

promotor pomocniczy: dr hab. Monika Kordowska-Wiater

Praca została wykonana na Wydziale Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Ocenę pracy doktorskiej wykonałam na zlecenie prof. dr hab. Izabeli Jackowskiej, Dziekana Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie zgodnie z wymogami Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2014 roku, poz. 1852; Dz. U. z 2015 roku poz. 249 i 1767), a także wymogami Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 3 października 2014 roku, w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. z 2014 roku, poz. 1383).

Ocena wyboru i znaczenia podjętej tematyki badawczej

Grzyby z rodzaju *Fusarium* od wielu lat pozostają obiektem zainteresowania naukowców z całego świata. Wydawać by się mogło, że na przestrzeni tych lat i prowadzonych badań powinny one być bardzo dobrze poznane i opisane. Pomimo, że na ich temat powstało wiele opracowań i publikacji naukowych, to w dalszym ciągu w wielu ośrodkach naukowych trwają intensywne badania nad lepszym rozpracowaniem grzybów z rodzaju *Fusarium spp.* Pierwsze badania nadały tym mikroorganizmom status patogenów roślinnych, zasiedlających głównie rośliny uprawne, co niestety odbijało się negatywnie na wielkości plonowania. Spadek plonu i co za tym idzie zysku producenta był pierwszym wskaźnikiem negatywnego działania grzybów z rodzaju *Fusarium*. W kolejnych etapach badań zaobserwowano, że grzyby z tego rodzaju, posiadają zdolności do produkcji toksycznych substancji, mogących być zagrożeniem nie tylko dla roślin, ale także dla ludzi i zwierząt. Dodatkowo, stwierdzano coraz częściej występujące u ludzi zakażenia wywoływane właśnie przez patogeny *Fusarium spp.* Te obserwacje przyczyniły się do konieczności opracowania racjonalnych środków zaradczych możliwych do zastosowania w leczeniu wszelkiego rodzaju fuzarioz. Zastosowanie syntetycznych środków ochrony roślin jest możliwe tylko w rolnictwie konwencjonalnym. Jednak w dynamicznie rozwijającym się sektorze ekologicznej produkcji żywności zastosowanie fungicydów jest zabronione. Pozostawienie roślin bez ochrony może przyczynić się do znacznie większego porażenia płodów rolnych patogennymi grzybami z rodzaju *Fusarium*, chociaż wyniki badań w tym zakresie nie są jednoznaczne. Zarówno owoce, warzywa, jak i zboża ekologiczne i konwencjonalne są porażane przez grzyby na różnych etapach produkcji i z różnorodnym natężeniem. Dlatego poszukuje się coraz to nowych metod zapobiegania rozwojowi fuzaryjnego porażenia roślin w uprawach ekologicznych. Aby jednak móc odnaleźć jak najlepszą metodę ograniczenia rozwoju patogena należy poznać go bardzo dogłębnie. W chwili obecnej prowadzone są badania nad zróżnicowaniem genetycznym w obrębie rodzaju *Fusarium*, jak i zróżnicowania wewnątrzgatunkowego. Ponadto, prowadzone są analizy pod kątem obecności genów odpowiedzialnych za produkcję specyficznych mykotoksyn oraz oceny patogeniczności konkretnych izolatów względem odmian i gatunków roślin. Niezwykle ciekawym zagadnieniem jest także hodowla odpornościowa mająca na celu selekcję i produkcję roślin posiadających naturalne mechanizmy chroniące je przed porażeniem grzybami. Jeszcze innym kierunkiem aktualnie prowadzonych badań jest ocena skażenia ziarna zbóż oraz pasz mykotoksynami. Jednak chyba najważniejszym kierunkiem nowoczesnych badań jest odnalezienie metody na skuteczne ograniczenie występowania patogennych grzybów, a tym

samym ograniczenie produkcji ich toksycznych metabolitów, zarówno na etapie produkcji roślinnej, następnie przechowywania i przetwórstwa. Najbardziej efektywne, ale czy skuteczne są naturalne i biologiczne metody ochrony, bo tylko takie są dozwolone do zastosowania w rolnictwie ekologicznym. Zastosowanie zjawiska konkurencji (o środowisko, miejsce bytowania, składniki pokarmowe czy produkcję enzymów powodujących rozkład chityny – głównego składnika ściany komórkowej grzybów) z grzybami patogenicznymi przyczynia się do odnalezienia i wyselekcjonowania organizmów, które mogą być bardzo pomocne w walce z grzybami z rodzaju *Fusarium*.

Podjęta tematyka badawcza jest niezmiernie istotna ze względu na zdrowie człowieka, jego dobre samopoczucie, jak też ochronę środowiska. W dobie wzrastających problemów z zanieczyszczeniami masowo produkowanej żywności zarówno fungicydami, jak i mykotoksynami istnieje pilna potrzeba odnalezienia takich metod ochrony plonu i w konsekwencji żywności, jak też zapewnienia, że produkowane płody rolne oraz żywność powstała na ich bazie są bezpieczne dla zdrowia konsumenta.

Ogólna ocena pracy

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska stanowi syntetyczne opracowanie obejmujące 133 strony wydruku komputerowego. W opracowaniu zamieszczono 23 autorskie tabele, 7 wykresów, 4 rysunki oraz 11 fotografii. W strukturze pracy umieszczono Część teoretyczną, obejmującą: **Spis treści, Streszczenie pracy** w języku polskim i angielskim, **Wstęp, Cel i Zakres pracy** oraz **Część doświadczalną** charakteryzującą **Materiał badań**, wykorzystane narzędzia i metody, **Opis Wyników i ich Dyskusję, Wnioski, Wykaz tabel, wykresów, rysunków i fotografii**. Przedstawiona struktura pracy jest typowa dla układu pracy eksperymentalnej, doświadczalnej, a umieszczenie dodatkowego spisu tabel, wykresów, rysunków i fotografii znacznie ułatwia poruszanie się po tekście pracy. Autorka pracy zamieściła w spisie 279 pozycji literatury, co z jednej strony świadczy o bardzo dogłębnym studiowaniu podstaw teoretycznych problematyki badawczej, ale z drugiej strony umieszczanie w pracy publikacji z lat 1958-1960 można było pominąć. Największa ilość artykułów przypada na lata 2000-2010, bowiem jest to ponad 54% wszystkich pozycji, a w drugiej kolejności 2011-2019 i jest to 39%. Publikacje z ostatnich 10 lat stanowią 51% wszystkich źródeł literaturowych. Pragnę jednak zauważyć, iż dobór pozycji literatury jest trafny i związany bezpośrednio z tematyką recenzowanej rozprawy doktorskiej. Aż 88% publikacji cytowanych w pracy są to opracowania angielskojęzyczne. Jednocześnie 2% cytowanej literatury stanowią prace z ostatnich dwóch lat.

Cel i zakres pracy zostały sformułowane w sposób logiczny i wynikają z przeglądu literatury na badany temat. Hipoteza badawcza główna została jasno sformułowana. Realizując wyznaczony zakres pracy Doktorantka przygotowała materiał badawczy, z którego wyizolowano mikroorganizmy (wybrano gatunki pszenicę, jęczmień oraz owies). Do pracy wytypowano patogeniczne grzyby z rodzaju *Fusarium* oraz ponad 100 izolatów drożdży. Izolaty były przechowywane zgodnie z procedurami w odpowiednich zakresach temperatury i na właściwych podłożach, których skład został precyzyjnie opisany. Następnie Doktorantka w bardzo przejrzysty i klarowny sposób opisała wszystkie etapy izolacji drożdży ze zbóż, oraz metodę i mechanizm hamującego wpływu drożdży na rozwój grzybni rodzaju *Fusarium*. Kolejnym etapem pracy była identyfikacja genetyczna drożdży oraz identyfikacja wydzielanych przez drożdże substancji lotnych oraz określenie ich hamującego działania w stosunku do grzybni *Fusarium*. Niezmiernie ważnym etapem była identyfikacja ilościowa i jakościowa związków lotnych przeprowadzona metodą HS-SPME. Bardzo istotną częścią pracy było oznaczanie przez Doktorantkę licznych enzymów litycznych produkowanych przez drożdże, a także podjęcia działań idących w kierunku analizy rozkładu ścian komórkowych grzybów i oznaczania produktów ich rozpadu. W konsekwencji Doktorantka określiła w sposób praktyczny zastosowanie drożdży do hamowania wzrostu grzybów z rodzaju *Fusarium* w ziarnach pszenicy oraz w produktach z nich powstałych czyli pieczywie pszennym. Warto podkreślić właściwy dobór narzędzi statystycznych, które w znaczący sposób przyczyniły się do weryfikacji postawionych na początku hipotez badawczych.

Zamieszczone w rozdziale Wyniki barwne fotografie w bardzo jasny sposób przybliżają czytelnikowi poszczególne fazy wzrostu grzybni *Fusarium* oraz wygląd morfologiczny badanych drożdży rozwijających się na pożywkach agarowych. Wszystkie obiekty (tabele, fotografie i wykresy) zamieszczone w rozdziale Wyniki są poprawnie numerowane i kolejność ich pojawiania się w tekście jest zgodna z numeracją. Z takiego układu wynika iż prezentacja wyników została przemyślana dość starannie i dokładnie opracowana, co znacznie ułatwiło czytanie i interpretację otrzymanych wyników. Recenzowana praca doktorska jest napisana bardzo starannie, z troską o poprawność języka polskiego oraz w sposób zrozumiały dla czytelnika.

Szczegółowa ocena pracy

We **Wstępie** pracy Doktorantka w sposób przejrzysty i jasny wprowadza czytelnika w problematykę badawczą, podając charakterystykę wątku głównego czyli problemu występowania grzybów z rodzaju *Fusarium* oraz mykotoksyn i ich szkodliwości, a także

wskazuje na podstawowe metody walki z fuzariozami w uprawach roślin. **Przegląd piśmiennictwa** naukowego dokonany przez Doktorantkę podkreśla istotność podjętej przez Nią tematyki badawczej. Bardzo dokładnie zostały scharakteryzowane liczne, istotne z punktu widzenia prowadzonego badania patogeny z rodzaju *Fusarium* a także dokładnie scharakteryzowano mykotoksyny produkowane przez te grzyby. Doktorantka dołożyła dużej staranności w opisie wpływu grzybów z rodzaju *Fusarium* na zdrowie zwierząt gospodarskich i zdrowie człowieka. Na szczególną uwagę zasługują opisane przez Doktorantkę ekonomiczne skutki występowania fuzarioz w systemie agrotechnicznym i co za tym idzie ich wpływu na plon i jego strukturę roślin gospodarskich. Bardzo ważnym i starannie omówionym problemem jest zagadnienie zjawiska antagonizmu drożdży w stosunku do grzybów fuzaryjnych. Jednocześnie dyplomantka w sposób bardzo umiejętny i syntetyczny opisała mechanizmy działania grzybów drożdżowych z w stosunku do grzybów patogennych. Ważnym uzupełnieniem pracy jest opis zastosowania grzybów drożdżowych w przemyśle spożywczym. **Cel pracy** został sformułowany poprawnie i **a sformułowane hipotezy badawcze** są jak najbardziej poprawne. W rozdziale **Material i metody** scharakteryzowano i opisano bardzo szczegółowo zastosowane metody badań. Wszystkie narzędzia badawcze zostały bardzo dobrze dobrane do prowadzonych badań. Wybrano najnowsze metody analityczne, genetyczne i biochemiczne. W rozdziale **Wyniki i dyskusja** przedstawiono dokumentację zdjęciową pomiarów i obserwacji cech morfologicznych kolonii grzybów fuzaryjnych i drożdży. Kolejne wykresy (ryciny) przedstawiają wyniki w układzie słupkowym. Ryciny są poprawnie skonstruowane i opisane. Posiadają opis użytych narzędzi statystycznych w postaci grup homogennych, a stała kolorystyka poprawia i znacznie ułatwia interpretację wyników. W każdym przypadku Doktorantka w sposób logiczny i jasny dyskutuje otrzymane wyniki i przedstawia je w świetle najnowszej i aktualnej literatury zagranicznej i krajowej. Na podkreślenie zasługuje fakt podjęcia przez Doktorantkę wątku wpływu badanych drożdży na zahamowanie produkcji mykotoksyn. Jak już wiele razy podkreślano problematyka toksyczności metabolitów wtórnych grzybów z rodzaju *Fusarium* jest bardzo ważna, szczególnie dla konsumentów mogących spożywać zanieczyszczone płody rolne (owoce i warzywa). Jest to bardzo ważne naukowe osiągnięcie. Niestety w literaturze światowej tematyka biologicznej walki z mykotoksynami w roślinach jest jeszcze bardzo słabo opisana. Co również zasługuje na podkreślenie iż Doktorantka podjęła się próby tak trudnego w interpretacji doświadczenia. Według mnie bardzo znaczącym osiągnięciem jest wykazanie iż zboża uprawiane metodami ekologicznymi charakteryzowały się większym zasiedleniem przez grzyby drożdżowe antagonistycznie działające w stosunku do grzybów z rodzaju *Fusarium*. Jak

wykazały badania Doktorantki najbardziej funkcjonalnym gatunkiem drożdży okazał się gatunek *Cryptococcus carnescens*. Doktorantka podjęła się problemu wyjaśnienia mechanizmu znaczenia związków lotnych produkowanych przez grzyby drożdżowe i ich znaczenie w ograniczaniu wzrostu grzybni *Fusarium*. Jako zwieńczenie pracy dyplomantka podjęła próbę wytypowania szczepów drożdży do przygotowania ciasta chlebowego, które to mikroorganizmy w sposób bardzo efektywny wykazywały zdolność ograniczania ilości fuzaryjnych mykotoksyn w przygotowanych wyrobach piekarniczych.

W rozdziale **Wnioski** na uwagę zasługuje wniosek nr 1, gdyż zawiera on istotną informację, iż zboża ekologiczne posiadają naturalną barierę ochronną w postaci grzybów drożdżowych i drożdżopodobnych, co znacznie efektywniej chroni te rośliny przed grzybami fuzaryjnymi. Wniosek nr 3 wskazuje jasno, że niektóre izolaty grzybów drożdżowych są w stanie ograniczać wzrost grzybni kilku różnych grzybów fuzaryjnych. Wnioski nr 4, 5 i 6 są sformułowane prawidłowo na podstawie osiągniętych wyników. Wniosek nr 7 wskazuje, że izolaty drożdży pozyskane z roślin ekologicznych miały znacznie większą specyfikę działania w stosunku do beta-1,3-glukonazy produkowanej przez grzyby fuzaryjne. We wniosku nr. 8 Doktorantka podkreśliła, że jeżeli wykryto w izolatach drożdży jakiegokolwiek niebezpieczne substancje (aminy biogenne) nie mogą one być zastosowane w technologii piekarskiej, co jest bardzo cenną uwagą. Wnioski nr. 9 i 10 zostały poprawnie sformułowane. Jedyne czego zabrakło mi w tej części pracy to podsumowującego stwierdzenia łączącego w sobie Wnioski z pracy oraz praktyczne ich zastosowanie. Liczę, że pani Doktorantka się odniesie do tego braku.

Spis literatury jest przygotowany bardzo starannie, z dużą troską o wszystkie szczegóły. Wszystkie nazwy czasopism podane według tego samego klucza. Nie znalazłam żadnych uchybień w tym rozdziale. Numery pozycji referencyjnych podane prawidłowo. W treści pracy pojawiają się wszystkie pozycje zamieszczone w spisie piśmiennictwa.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska **mgr inż. Izabeli Podgórskiej-Kryszczuk, pt. „Drożdże jako czynnik ograniczania grzybów z rodzaju *Fusarium* w żywności”** ma bardzo wysoką wartość naukową, a także duży potencjał aplikacyjny. Dotyczy ważnej i aktualnej tematyki badawczej, wnosi nowe elementy, informacje i spostrzeżenia, a przedstawione przez mnie bardzo drobne i nieliczne uwagi, nie umniejszają jej merytorycznej wartości poznawczej oraz znaczenia podjętego problemu badawczego.

Uważam, że oceniana dysertacja spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim zawarte w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr. 65, poz. 595, z póź. zm.). Doktorantka wykazała wysoką umiejętność prowadzenia badań naukowych, a także opracowania i interpretacji, jak też dyskusji otrzymanych wyników w oparciu o aktualne piśmiennictwo z zakresu podjętej problematyki badawczej. Wnioskuje zatem do Rady Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie pani mgr inż. **Izabeli Podgórskiej-Kryszczuk** do publicznej obrony oraz dalszego postępowania w przewodzie doktorskim.

Ze względu na moją wysoką ocenę recenzowanej pracy, wynikającą z dużego zakresu analiz, niezwykle poprawnego posługiwania się narzędziami badawczymi, uzyskania wartościowych wyników oraz umiejętnej ich interpretacji, jak też wysokiej poprawności napisania dysertacji naukowej proponuję wyróżnienie przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej stanowiącej podstawę postępowania doktorskiego Pani mgr inż. Izabeli Podgórskiej-Kryszczuk.

Warszawa, 29 lipca 2019 roku.

dr hab. Ewelina Hallmann

