

Warszawa 5 stycznia 2023

prof. dr hab. Ewelina Hallmann
Katedra Żywności Funkcjonalnej,
Ekologicznej i Towaroznawstwa
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Marzeny Marzec- Stasiak

„Mikotoksyny *Fusarium poae* w zbożach i ich produktach”

promotor pracy: prof. dr hab. Ewa Solarska

promotor pomocniczy: dr inż. Jarosław Mazurkiewicz

Praca została wykonana w Katedrze Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywnienia Człowieka na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie.

Ocenę pracy doktorskiej wykonałam na zlecenie Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologii Żywności i Żywnienia, prof. dr hab. Waldemara Gustawa, zgodnie z wymogami Ministra Edukacji i Nauki oraz uchwałą Rady Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie w dniu 29 października 2014 roku w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie technologia żywności i żywienia na podstawie ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami) – w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – przepisy wprowadzające Ustawę prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669).

Ocena wyboru i znaczenia podjętej tematyki badawczej

Zboża i wykonane z nich produkty żywnościowe stanowią obecnie podstawę żywienia człowieka. Produkcja zbóż stanowi jedną z najważniejszych gałęzi rolnictwa w Polsce oraz na świecie. Oczywiście należy podkreślić, że wszelakie zboża uprawne są nie tylko podstawowym

surowcem w produkcji żywności, zaczynając od produktów podstawowych takich jak mąka oraz jej produkty, czyli pieczywo i makarony, ale również płatki, kasze i otręby, do bardzo specjalistycznych produktów, jak przykładowo żywność dla dzieci i osób starszych. Zboża są spożywane nie tylko przez osoby zdrowe, ale również te z licznymi schorzeniami metabolicznymi oraz fizjologicznymi. Dla każdej z tych grup społecznych zboże oraz jego produkty, muszą stanowić żywność bezpieczną. Nie można zapominać, że zboże jest również wykorzystywane w takich gałęziach przetwórstwa jak gorzelnictwo i browarnictwo, a także produkcja paszy dla zwierząt. Tu również priorytetem jest utrzymanie wysokiego bezpieczeństwa żywnościowego, związanego z czystością materiału przetwarzanego. Intensyfikacja produkcji rolnej, warunki agrometeorologiczne, oraz obecność patogenów w środowisku powodują, że zboża są najczęściej infekowanymi surowcami. Niebezpieczeństwo pochodzi ze strony grzybów chorobotwórczych. Infekcje grzybowe pociągają za sobą obecność toksyn zwanych mikotoksynami. W pierwotnej ścieżce znajdują się one w materiale roślinnym, aby w konsekwencji łańcucha przetwórczego dostać się do produktów i w rezultacie do organizmu człowieka. Występowanie chorób grzybowych zbóż stanowi poważne zagrożenie dla produkcji żywności i zapewnienia bezpieczeństwa żywnościowego dla konsumenta. W przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej podjęto próbę oceny zagrożenia ze strony grzyba strzępkowego *Fusarium poae*, zarówno dla samych roślin, zwierząt hodowlanych jak i człowieka. Jeszcze do niedawna gatunek ten był badany bardzo sporadycznie, ze względu na jego niewielkie występowanie. W chwili obecnej, obserwuje się wzrost znaczenia toksyczności tego gatunku, a także wzrost niebezpieczeństwa ze strony mikotoksyn, które produkowane są przez ten gatunek grzyba. Celem poznawczym prezentowanej pracy jest poszerzenie wiedzy w zakresie wykrywalności niebezpieczeństwa ze strony grzyba patogenicznego, z zastosowaniem dostępnych metod analitycznych. Warto podkreślić, że w pracy zostały przedstawione metody badań, które nie wymagają zastosowania bardzo specjalistycznego sprzętu laboratoryjnego lub nie wymuszają współpracy z wysoko specjalistycznym laboratorium analitycznym, które jest wyposażone w najnowszej klasy kosztowny sprzęt, do którego obsługi konieczne jest zatrudnienie wykwalifikowanego personelu. Kolejnym założeniem pracy było przetestowanie modelu badawczego na próbkach zbóż ekologicznych. Jest to związane z kilkoma faktami. Zboża i produkty zbożowe ekologiczne cieszą się wśród konsumentów coraz większą popularnością. Z drugiej strony istnieje wiele podejrzeń, że brak stosowania fungicydów w

rolnictwie ekologicznym przyczynia się do większego porażenia roślin grzybami patogenicznymi, a przez to przyczynia się do zwiększenia zawartości mikotoksyn w zbożach i produktach zbożowych.

Dlatego podjęta tematyka badawcza jest niezmiernie istotna ze względu na zdrowie człowieka, jego dobre samopoczucie i prawidłowe funkcjonowanie organizmu. W czasach, gdy zapewnienie bezpieczeństwa żywnościowego nabiera nowego znaczenia praktycznego, a jakość żywności jest jednym z ważniejszych priorytetów jej produkcji, uważam, że Doktorantka dokonała trafnego wyboru tematyki badawczej.

Ogólna ocena pracy

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska stanowi manuskrypt o typowym układzie dla tego typu prac. Część teoretyczną, obejmującą: **Streszczenie pracy** w języku polskim i angielskim. **Cel pracy i hipotezy badawcze, pracy**, które w odpowiedni sposób kierują czytającego w zakres przedstawionej do oceny pracy. **Wstęp**, w którym zostały opisane w bardzo dokładny i przystępny sposób podstawy teoretyczne i przedstawiona tematyka badawcza zamieszczona w pracy. **Część doświadczalną** charakteryzującą szczegółowy opis **materiału do badań**, wykorzystanych narzędzi technologicznych i stosowanych metod. Bardzo praktycznymi elementami pracy są: tabela stosowanych skrótów, spis rysunków oraz tabel, co znacząco ułatwia poruszanie się po tekście manuskryptu. Następnie znajdziemy w pracy **Omówienie głównych wyników** i ich dyskusję w świetle najnowszej literatury światowej. Ostatnim rozdziałem pracy są wnioski wynikające bezpośrednio z otrzymanych w pracy wyników. Przedstawiona struktura pracy jest typowa dla układu pracy eksperymentalnej, doświadczalnej, Autorka pracy zamieściła w spisie 342 pozycji literatury w tym 335 pozycji z artykułów oraz 7 pozycji to linki do stron internetowych z wzorcami mikotoksyn. Taki układ i dobór literatury świadczy o bardzo dogłębnym studiowaniu podstaw teoretycznych problematyki badawczej. Największa ilość artykułów przypada na lata 2002-2012, bowiem jest to 58% wszystkich pozycji, a w drugiej kolejności 2013-2021 i jest to 22%. Publikacje z ostatnich 10 lat stanowią 28% wszystkich źródeł literaturowych. Pragnę jednak zauważyć, iż dobór pozycji literatury jest trafny i związany bezpośrednio z tematyką recenzowanej rozprawy doktorskiej. Aż 97% publikacji cytowanych w pracy są to opracowania angielskojęzyczne.

Jednocześnie 8,2% cytowanej literatury stanowią prace z ostatnich dwóch lat. Warto podkreślić, że w zacytowanej bibliografii znajduje się wiele artykułów pochodzących z różnych lat, ale opublikowanych przez te same zespoły badawcze w jednostkach międzynarodowych. Świadczy to o regularnym monitorowaniu wyników badań światowych, dokonanych przez Doktorantkę. Dlatego uważam, że jest to bardzo cenny element pracy doktorskiej.

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, w postaci pozyskania 69 prób ziarna, które pochodziły z 23 miejsc poboru i były w 3 powtórzeniach polowych. Próbki te poddano konwencjonalnej analizie mikologicznej. Wszystkie uzyskane izolaty *Fusarium spp.*, w tym *F. poae* oraz formy niezarodnikujące z tego rodzaju poddano analizie molekularnej. Z 21 izolatów *F. poae* i 9 izolatów *F. sporotrichioides*, na podstawie cech morfologicznych zarodników oraz charakterystyki wzrostu, wybrano dwa izolaty *Fusarium poae*: mikrokonidialny oraz mieszany, posiadający zarówno mikro- jak i makrokonidia, oraz jeden izolat *Fusarium sporotrichioides*, które wykorzystano do sztucznej inokulacji kłosów. Dalsze badania inokulacyjne prowadzono na 6 odmianach pszenicy (3 odmianach jarych oraz trzech odmianach ozimych).

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*, ze szczególnym uwzględnieniem gatunku *Fusarium poae* oraz mikotoksyn produkowanych przez ten gatunek. Warto podkreślić, że Doktorantka podjęła się bardzo trudnego zadania, jakim jest omówienie poszczególnych ścieżek syntezy oraz aspektów genetycznych w biosyntezie mikotoksyn. **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, chemiczne, fizyczne i genetyczne. Niezwykle ważnym elementem pracy był właściwy dobór narzędzi statystycznych

i przeprowadzenie analizy statystycznej, która umożliwiła właściwe wnioskowanie z pracy. Rozdział **Wyniki i dyskusja** pokazują ogrom pracy wykonany przez Doktorantkę. W analizie mikologicznej uzyskano łącznie 679 izolatów grzybów należących do 17 taksonów oraz izolaty sklasyfikowane jako grzyby nieprzetrwalnikujące. Wśród badanych izolatów udało się zidentyfikować 355 izolatów *Alternaria alternata*, 97 izolatów *Epicoccum nigrum*, 126 izolatów należących *Fusarium spp.* oraz niewielką liczbę izolatów innych taksonów lub takich, które nie wytworzyły zarodników i nie była możliwa ich identyfikacja. Spośród izolatów *Fusarium spp.* oznaczono **24 izolaty *Fusarium poae*** i 14 izolatów *Fusarium sporotrichioides*. Aby nie popełnić błędów identyfikacyjnych, wszystkie izolaty *Fusarium spp.*, w tym *Fusarium poae* oraz formy niezarodnikujące z tego rodzaju poddano analizie molekularnej w celu potwierdzenia przynależności gatunkowej. W badaniach przetestowano 126 izolatów z rodzaju *Fusarium*, ostatecznie uzyskując 108 izolatów *Fusarium spp.*, w tym 21 izolatów *Fusarium poae* i 9 izolatów *Fusarium sporotrichioides*, które wykorzystano do dalszych badań. Do sztucznej infekcji kłosów użyto dwa izolaty *Fusarium poae*: mikrokonidialny oraz mieszany, posiadający zarówno mikro- jak i makrokonidia, oraz jeden izolat *Fusarium sporotrichioides*. Na szczególną uwagę zasługuje kompleksowość prac analitycznych, gdyż Doktorantka nie tylko dokonała analiz z przeprowadzonego zakresu pracy, ale również starała się powiązać elementy warunków agrotechnicznych i pogodowych z otrzymanym stanem porażenia zbóż. Oznacza to fakt dogłębnej analizy przyczyn i skutków otrzymanego stanu rzeczy. Jest to ważna cecha wskazująca, iż nie tylko zostały pokazane wyniki jako stan bieżący, ale również powiązано je z mechanizmami, które mogą odpowiadać za ten stan rzeczy i zjawisk. Dalszymi etapami pracy była identyfikacja mikotoksyn produkowanych przez poszczególne gatunki grzybów oraz ich identyfikacja genetyczna. Wskazuje to na ogrom kierunków i wątków badawczych zrealizowanych przez Doktorantkę. W rozdziale Dyskusja, pani mgr inż. Marzena Marzec-Stasiak w bardzo swobodny i przystępny sposób zinterpretowała otrzymane wyniki z tymi dostępnymi w literaturze. Lekkość i swoboda poruszania się w tej części pracy przyczyniły się do powstania bardzo efektywnego dyskursu wynikającego z toku pracy i badań literaturowych, światowych. W pracy Doktorantki znaleziono również kierunki nie tylko teoretyczne związane z prowadzeniem analiz i obserwacji, ale również praktyczne, ujmujące wątek badawczy jako wstęp do praktycznych zaleceń związanych ze zmniejszeniem zagrożenia ze strony grzybów patogennych z rodzaju *Fusarium* i produkowanymi przez niego

mikotoksynami. Bardzo cenne są uwagi i spostrzeżenia Doktorantki w kontekście zmian klimatycznych, jakie następują w naszym kraju. Co świadczy o dostosowaniu wyników badań do sytuacji, jaka ma miejsce tu i teraz w Polsce. W rozdziale Wnioski Doktorantka odniosła się syntetycznie do otrzymanych wyników. Potwierdziła, że w uprawach ekologicznych różnych odmian pszenicy stwierdzono populacje grzybów strzępkowych ze znacznym udziałem *Fusarium spp.* Niemal zawsze w skład tych populacji wchodził *Fusarium poae*, a jego występowanie nie zależało od formy pszenicy (jara lub ozima) ani cech odmianowych takich jak odporność na fuzariozy. Grzyb *Fusarium poae* był głównym emitentem toksyny T2 w ziarnie i produktach zbożowych. Zaobserwowano zależność pomiędzy zawartością mikotoksyn w ziarnie, a metodami obróbki ziarna, które pozwoliły zmniejszyć stężenie mikotoksyn w produktach finalnych. To może prowadzić do oszacowania poziomu zagrożenia zanieczyszczeń mikotoksynami produktów rynkowych, co jest bardzo ważną informacją dla konsumenta. Wprowadzenie izolatów *Fusarium poae* i *Fusarium sporotrichioides* prowadzi do zmian ilościowych i jakościowych mikroorganizmów w danym środowisku, a to wskazuje, że organizmy te są ze sobą bardzo ściśle powiązane z miejscem bytowania. Niezmiernie interesujące wydaje się wniosek numer 7 w którym Doktorantka stwierdziła, że izolaty *Fusarium poae*, wprowadzane do upraw polowych z powodzeniem konkurowały z obecnymi już w tym środowisku gatunkami grzybów strzępkowych, utrzymując się w nowo zajętych niszach ekologicznych i prowadząc do wykształcenia nowej równowagi w środowisku.

Jedyna uwaga jaka mi się nasunęła w trakcie czytania i analizowania wyników przedstawionych w pracy doktorskiej to zastosowanie aplikacyjne w praktyce uzyskanych wyników i obserwacji. Czy istnieje możliwość opracowania modelowego, wskazującego na stan zanieczyszczenia mikotoksynami produktów zbożowych, gdy wiemy jakie gatunki grzybów z rodzaju *Fusarium* zostały wykryte w ziarnie zbóż. Bardzo proszę panią Doktorantkę o ustosunkowanie się do tego problemu i sprecyzowanie czy widzi możliwości zastosowania i nowe kierunki badawcze z tym związane.

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. Marzeny Marzec-Stasiak, pt. „Mikotoksyny *Fusarium poae* w zbożach i ich produktach”** 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 rozprawa doktorska spełnia warunki określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami) – w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – przepisy wprowadzające Ustawę prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669). 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 Dyscypliny Technologii Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie pani **mgr inż. Marzeny Marzec-Stasiak** 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, uzyskaniu 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. Marzeny Marzec-Stasiak**. Mam nadzieję, że tak wartościowe wyniki znajdą swoje przeznaczenie w publikacjach naukowych w czasopiśmie posiadających indeks wpływu IF o zasięgu międzynarodowym.

Warszawa, 5 stycznia 2023 roku.

prof. dr hab. Ewelina Hallmann

