

STRESZCZENIE

Grzyby termooporne charakteryzują się opornością na działanie wysokich temperatur, co najmniej 75°C przez 30 minut. Do najczęściej występujących grzybów termoopornych zaliczamy rodzaje *Neosartorya*, *Byssosclamys* oraz *Talaromyces*. Askospory (zarodniki workowe) wymienionych rodzajów uważane są za najbardziej niezniszczalne obecnie znane struktury eukariotyczne.

Grzyby z rodzaju *Neosartorya* występują w glebie oraz nisko rosnących, mających kontakt z glebą owocach, często są czynnikiem powodującym psucie termicznie przetwarzanych produktów owocowych. Ze względu na odporność askospor na ekstremalne stresy są one w stanie przetrwać proces pasteryzacji przemysłowej, co może skutkować wzrostem grzybni w zamkniętym opakowaniu. Grzyby *Neosartorya* mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzi oraz zwierząt, ze względu na produkcję mykotoksyn (toksycznych metabolitów) oraz z uwagi na możliwość wywołania chorób. Z drugiej strony niektóre metabolity tych grzybów posiadają właściwości, które mogą być wykorzystane w farmacyce, rolnictwie bądź w innych dziedzinach gospodarki.

Nadrzędnym celem niniejszej pracy było określenie występowania grzybów *Neosartorya* w glebach i owocach truskawki pochodzących z wybranych plantacji przemysłowych zlokalizowanych na terenie województwa lubelskiego i mazowieckiego. Natomiast na cele szczegółowe składała się charakterystyka molekularna i metaboliczna lokalnie występujących izolatów *Neosartorya*. Charakterystyka molekularna izolatów uwzględniała identyfikację występujących gatunków oraz określenie zmienności genetycznej. Natomiast charakterystyka metaboliczna izolatów obejmowała: analizę stopnia termooporności, określenie zróżnicowania katabolicznego, badanie wrażliwości chemicznej oraz określenie wpływu warunków hodowli na wybrane cechy fenotypowe.

Przeprowadzone badania wykazały, że termooporne grzyby *Neosartorya* występowały w glebie pobranej ze wszystkich plantacji przemysłowych. Stwierdzono, że spośród 785 izolatów *Neosartorya* tylko 29% stanowiły izolaty pochodzące z owoców. Wśród grzybów termoopornych wyizolowanych z gleby i owoców truskawki przeważał gatunek *N. glabra*. Ponadto, w glebie zaobserwowano obecność dwóch innych gatunków: *N. laciniosa* i *N. assulata*.

Zarówno analiza sekwencji D2 LSU, jak i analiza restrykcyjna AFLP wykazały jednoznaczną zależność profilu genetycznego od przynależności gatunkowej badanych izolatów *Neosartorya*. Jednocześnie zaobserwowano istnienie zróżnicowania genetycznego w zależności od rodzaju próbki, z której zostały wyizolowane testowane grzyby termooporne (gleba, truskawki).

Stwierdzono, że badane grzyby termooporne charakteryzowały się zróżnicowaną odpornością na wysoką temperaturę oraz wykazano, że badane izolaty posiadają wyższą tolerancję na szok termiczny w pulpie truskawkowej niż w buforze, czego przyczyną jest ochronne działanie cukrów zawartych w produkcie naturalnym.

Analiza profili metabolicznych izolatów *Neosartorya*, wykazała, że badane grzyby charakteryzowały się najintensywniejszym wykorzystaniem substratów, należących do grupy węglowodanów. Ponadto, badane grzyby termooporne były zdolne do wykorzystania szerokiej gamy substratów, co było charakterystyczne zwłaszcza dla świeżo izolowanych grzybów *Neosartorya*.

Przeprowadzone badania wykazały wewnątrzgatunkowe zróżnicowanie wrażliwości chemicznej grzybów *Neosartorya fischeri*, pomiędzy szczepem świeżo wyizolowanym ze środowiska a długo deponowanym, wskazując na większą oporność izolatu świeżego na badane związki chemiczne. Ponadto stwierdzono, że selenian sodu oraz kwas zaragozowy A stanowią potencjalne związki, jako substancje aktywne fungicydów przeciwko gatunkowi *N. fischeri*.

Słowa kluczowe: *Neosartorya*, *N. assulata*, *N. fischeri*, *N. glabra*, *N. laciniosa*, grzyby termooporne, D2 LSU rDNA, ITS, AFLP, Biolog FF, Biolog Phenotype Microarray, D- value

ABSTRACT

Heat-resistant fungi (HRF) are characterized by resistance to high temperatures, at least 75°C for 30 minutes. Fungi belong to the genus *Neosartorya* are one of the most frequently found HRF. Ascospores of HRF genera: *Neosartorya*, *Byssoschlamys* and *Talaromyces* are the most resilient eukaryotic structures currently known.

Neosartorya fungi occur in soil and low-growing fruits, are often factors causing spoilage of thermally processed fruit products. Due to the resistance of ascospores to extreme stress, they are able to survive the process of industrial pasteurization, which may result in the growth of mycelium in a closed package. *Neosartorya* may pose a threat to human and animal health, because some species produce mycotoxins (toxic metabolites) and can cause disease. On the other hand, some of the metabolites of these fungi have properties that can be used in pharmaceuticals, agriculture, or other areas of the economy.

The main aim of the work was to determine the occurrence of *Neosartorya* fungi in the soils and strawberries fruit from selected industrial plantations located in the Lublin and Masovian provinces. Sub goals included the analysis of molecular and metabolic characterization of locally present *Neosartorya* isolates. The molecular characteristics of the isolates included identifying of the occurring species and determining of the genetic diversity. The metabolic characterization of isolates included: examining the heat-resistance, determining metabolic differences and term the impact of culture conditions on selected phenotypic traits.

Studies have shown that *Neosartorya* fungi occurred in soil collected from all industrial plantations. It was found that from 785 *Neosartorya* isolates, only 29% were isolated from fruit. Among the heat-resistant fungi isolated from the soil and strawberry fruits, the predominant species was *N. glabra*. In addition, two other species were found in the soil: *N. laciniosa* and *N. assulata*.

Both analysis of D2 LSU sequence and restriction analysis of AFLP showed the existence of genetic diversity of *Neosartorya* strains depending on the type of sample from which they were isolated (soil, strawberries). The conducted studies showed a clear dependence of the metabolic and genetic profile on the species affiliation.

It was found that the tested heat-resistant fungi were characterized by different resistance to high temperature and it was shown that the tested isolates show higher tolerance to thermal shock in strawberry pulp than in buffer, which is caused by the protective effect of sugars contained in the natural product.

Analysis of metabolic profiles of *Neosartorya* isolates showed that the examined fungi were characterized by intensive use of substrates belonging to the group of carbohydrates. In addition, the examined heat-resistant fungi were able to use a wide range of substrates, which was characteristic mainly to freshly isolated *Neosartorya* fungi.

The conducted studies showed intraspecific diversity of the chemical sensitivity of *Neosartorya fischeri* fungi, between a strain freshly isolated from the environment and long-deposited, indicating greater resistance of the fresh isolate to the tested chemical compounds. In addition, it has been shown that Sodium Selenate and Zaragozic Acid A are potential compounds as active substances of fungicides against *N. fischeri*.

Keywords: *Neosartorya*, *N. assulata*, *N. fischeri*, *N. glabra*, *N. laciniosa*, heat-resistant fungi, D2 LSU rDNA, ITS, AFLP, Biolog FF, Biolog Phenotype Microarray, D- value