

Toruń, 29.08.2025r.

Prof. dr hab. Patrycja Golińska
Katedra Mikrobiologii
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Wiktorii Maj

pt. „Rola właściwości metabolicznych, morfologicznych i genetycznych grzybów *Neosartorya* spp. (*Aspergillus* spp.) w kształtowaniu ich odporności na związki konserwujące, chemiczne oraz naturalne ekstrakty roślinne” wykonanej w Instytucie Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk pod kierunkiem prof. dr hab. Magdaleny Frąc oraz dr Giorgii Pertile.

1. Wprowadzenie

Recenzję wykonałam na zlecenie Dyrektora Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, prof. dr hab. Cezarego Sławińskiego, z dnia 11 lipca 2025r. Otrzymałam kompletny zestaw dokumentów umożliwiający ocenę rozprawy doktorskiej zgodnie z wymaganiami określonymi w ustawie z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023r., poz. 742 ze zmianami).

2. Ocena wyboru problematyki badawczej

Rozprawa doktorska dotyczy ważnej tematyki bezpieczeństwa żywnościowego i związanego z nim zastosowania różnych substancji do konserwowania żywności w celu wyeliminowania niepożądanych mikroorganizmów, których obecność stanowi zagrożenie dla konsumentów i powoduje ogromne straty ekonomiczne. Stanowi to poważny problem zwłaszcza w przypadku zakażeń trudnymi do wyeliminowania grzybami termoopornymi.

Grzyby termooporne, w tym te należące do rodzaju *Neosartorya*, które są formą teleomorficzną rodzaju *Aspergillus*, stanowią zagrożenie dla przechowywania i produkcji żywności, ponieważ mogą zakażać i niszczyć plony rolnicze oraz przetrwać niekorzystne czynniki środowiskowe, w tym procesy pasteryzacji i traktowania chemicznymi środkami konserwującymi, powodując znaczne straty ekonomiczne dla producentów. Ponadto grzyby te mogą wydzielać mykotoksyny, które niekorzystnie wpływają na zdrowie konsumentów. Aby zminimalizować te straty i zagrożenia, konieczne jest wdrożenie odpowiednich praktyk rolniczych, właściwe przechowywanie i konserwowanie żywności i stosowanie skutecznych systemów kontroli bezpieczeństwa żywności.

W rolnictwie konwencjonalnym powszechne jest stosowanie chemicznych fungicydów do eliminacji zakażeń grzybowych. Jednak ich nadużywanie prowadzi do wzrostu oporności na te środki ochrony roślin, a tym samym spadek ich skuteczności, pogarszania się stanu ekosystemów naturalnych i zdrowia konsumentów.

Ponadto, wprowadzane przez Unię Europejską regulacje i rosnąca świadomość konsumentów wpływa na wzrost w sektorze rolniczym udziału rolnictwa ekologicznego, kosztem konwencjonalnego. Podejście to ma ograniczyć niekorzystny wpływ sektora rolno-spożywczego na środowisko, poprawić bezpieczeństwo żywności i promować takie metody uprawy i ochrony roślin, które zmniejszają wykorzystanie środków

chemicznych. W związku z tym rośnie zapotrzebowanie na alternatywne metody ochrony plonów i żywności przetworzonej przez zagrożeniami wynikającymi z zakażeń mikrobiologicznych, które obejmują zastosowanie substancji pochodzenia naturalnego i czynników biologicznych.

Jednak do powszechnego wprowadzenia tych metod do sektora rolno-spożywczego wymagany jest nakład badań mających udowodnić skuteczność takich alternatywnych, naturalnych metod wobec szerokiego panelu mikroorganizmów, ich długotrwały efekt przeciwdrobnoustrojowy po zastosowaniu i brak nabywania oporności na zastosowane preparaty, co umożliwiłoby ich ponowne, wielokrotne zastosowanie. W tym kontekście, niezwykle ważne jest poznanie kształtowania się mechanizmów odpowiedzi mikroorganizmów poddanych traktowaniu określonymi preparatami (odpowiedź na stres środowiskowy). Jest to duże wyzwanie szczególnie wobec mikroorganizmów charakteryzujących się dużą opornością na różne czynniki środowiskowe, jak termooporne *Neosartorya* spp.

W tym ujęciu podjęta przez mgr Wiktorię Maj problematyka badawcza jest nowatorska a wybór tematu rozprawy doktorskiej pt.: Rola właściwości metabolicznych, morfologicznych i genetycznych grzybów *Neosartorya* spp. (*Aspergillus* spp.) w kształtowaniu ich odporności na związki konserwujące, chemiczne oraz naturalne ekstrakty roślinne” jest uzasadniony, zarówno z poznawczego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia, co spełnia wymagania stawione kandydatom do stopnia doktora określone w art. 187 pkt. 2 ustawy prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

3. Ocena formalna

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Wiktorii Maj, przygotowana pod kierunkiem prof. dr hab. Magdaleny Frąc oraz dr Giorgii Pertile, stanowi zbiór trzech powiązanych tematycznie artykułów naukowych, w tym jedna praca przeglądowa i dwie prace badawcze, i dwóch manuskryptów zawierających nieopublikowane wyniki badań, określonych jako badania uzupełniające.

Rozprawa doktorska składa się z następujących rozdziałów: Wprowadzenie, Hipotezy badawcze oraz cel rozprawy doktorskiej, Materiały i metody, Omówienie wyników publikacji oraz badań uzupełniających uzyskanych wyników, Podsumowanie i wnioski oraz Bibliografia. W pracy zamieszczono pełne teksty publikacji wraz z materiałami dodatkowymi, oświadczenia współautorów oraz życiorys naukowy doktorantki. Praca poprzedzona jest streszczeniem w języku polskim i angielskim oraz listą publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Cała praca stanowi 408 stron.

Artykuły opublikowano w latach 2023-2024. Sumaryczny współczynnik wpływu (Impact Factor) zbioru publikacji, zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 17,2, a suma punktów według MNiSzW jest równa 480. Są to wskaźniki bardzo dobre. Wszystkie opublikowane prace są wieloautorskie, liczące od 3 do 5 autorów. Nieopublikowane manuskrypty artykułów naukowych liczą odpowiednio 9 i 4 autorów. We wszystkich publikacjach doktorantka jest pierwszym autorem.

W załączonych do pracy oświadczeniach wszyscy autorzy określili swój udział i zakres wykonywanych prac w czasie realizacji badań i przygotowywania manuskryptów. Z oświadczeń wynika, że w pracach eksperymentalnych mgr Wiktoria Maj współuczestniczyła w opracowaniu koncepcji badań, projektowaniu i przeprowadzaniu eksperymentów oraz opracowaniu koncepcji manuskryptów i ich korekcie. Przeprowadziła szczegółową analizę danych literaturowych, analizę statystyczną i interpretację wyników badań oraz przygotowała rysunki i tabele. Udział w pracy przeglądowej doktorantki polegał na współuczestnictwie w opracowaniu koncepcji manuskryptu, przeprowadzeniu analizy danych literaturowych, przygotowaniu tabel

i rysunków oraz manuskryptu, a także współudziale w korekcie manuskryptu. Na tej podstawie rolę mgr Wiktorii Maj w powstawaniu w/w prac uznaję za wiodącą.

Wszystkie prace opublikowano w czasopismach umieszczonych w bazie ISI Journal Citation Reports, które posiadają wysoki czynnik wpływu i wysoką punktację wg. listy MNiSzW. Cykl prac rozpoczyna się od pracy przeglądowej, która stanowi bardzo dobre wprowadzenie do tematyki badawczej rozprawy. Na szczególną uwagę zasługuje druga i trzecia z wymienionych publikacji, które ukazały się w Scientific Reports wydawnictwa Nature (IF=3.8, 140 pkt. MNiSzW) i Food Chemistry wydawnictwa Elsevier (IF=8.5; MNiSW=200 pkt). Wyniki badań uzupełniających stanowią cenne dopełnienie tych już opublikowanych, są bardzo dobrze opracowane i w mojej ocenie, w pełni przygotowane do złożenia w czasopismach naukowych o wysokich wskaźnikach.

Podsumowując ocenę formalną stwierdzam, że cykl publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe mgr Wiktorii Maj oraz ich opis spełniają warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 pkt.3 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2023r., poz. 742 ze zmianami).

4. Ocena merytoryczna

Pierwszy z głównych rozdziałów, zatytułowany „Wprowadzenie” obejmuje 16 stron i stanowi syntetyczny opis tematyki przedmiotu wprowadzający czytelnika w zakres prowadzonych badań. Doktorantka charakteryzuje skalę produkcji owoców w Polsce i UE, panujące trendy oraz obowiązujące obecnie regulacje środowiskowe. Przedstawia zagrożenia wynikające z mikrobiologicznego zakażenia owoców oraz metody ich ochrony, w tym ich skuteczność. Doktorantka charakteryzuje grzyby z rodzaju *Neosartorya* jako czynnik sprawczy psucia żywności i podejścia badawcze w analizie odpowiedzi tych grzybów na stres środowiskowy. Pełne rozwinięcie tych zagadnień znajduje się w pierwszej publikacji z cyklu – pracy przeglądowej (P1). W mojej ocenie zaprezentowana praca przeglądowa stanowi bardzo wartościowy przegląd literatury związanej z tematyką ocenianej dysertacji, prezentując dotychczasowy stan wiedzy z zakresu problematyki, wpisującej się w dyscyplinę rolnictwo i ogrodnictwo. Przedstawione podstawy teoretyczne są dobrym wprowadzeniem do postawienia „**hipotezy badawczej**” i określenia „**celu pracy**”, co doktorantka uczyniła w rozdziale drugim dysertacji. Główna hipoteza badawcza zakładała, że właściwości metaboliczne, morfologiczne i genetyczne grzybów z rodzaju *Neosartorya* mają wpływ na kształtowanie wrażliwości tych grzybów na naturalne ekstrakty roślinne i związki konserwujące, a adaptacja *Neosartorya* spp. do wykorzystania wielu substratów, nawet potencjalnie szkodliwych, wiąże się ze zmianami ich profilu metabolicznego i cech morfologicznych. Ponadto, Doktorantka postawiła dziewięć hipotez szczegółowych. „**Celem pracy**”, było określenie roli właściwości metabolicznych, morfologicznych i genetycznych grzybów z rodzaju *Neosartorya* w kształtowaniu ich odporności na konserwanty, substancje chemiczne i naturalne ekstrakty roślinne, obejmując również testy *in vivo* nad wpływem tych czynników na profil metaboliczny i mikrobiom owoców truskawki. W pracy sprecyzowano pięć celów szczegółowych.

W mojej opinii hipotezy badawcze i cel badań zostały postawione poprawnie. Zadania badawcze zostały logicznie zaplanowane i konsekwentnie realizowane prowadząc do weryfikacji założonych hipotez badawczych. Do realizacji postawionego celu mgr Wiktoria Maj wykorzystwała szereg metod badawczych stosowanych w mikrobiologii, w tym najnowocześniejsze techniki badawcze. Badania obejmowały hodowlę grzybów, identyfikację molekularną szczepów, testy inhibicji metodą dyfuzyjno-krażkową i mikroplytek, analizy profilu metabolicznego i wrażliwości chemicznej izolatów z wykorzystaniem płytek Biolog, analizy

aktywności metabolicznej grzybów metodą fluorescencyjną oraz mikrobiomu truskawki za pomocą pytek Biolog EcoPlates, analizy mikroskopowe – mikroskopia świetlna, elektronowa, konfokalna, oraz sekwencjonowanie genowe, genomowe, analizy genomów, analizy metataksonomiczne i metabolomikę, które w sposób syntetyczny przedstawiono w rozdziale „**Materiały i metody**”, a w sposób szczegółowy omówiono w części metodycznej poszczególnych artykułów naukowych i manuskryptów publikacji.

Do tej części pracy mam jednak pytania:

1. Z opisu wynika, że Doktorantka na początku realizacji pracy doktorskiej identyfikowała izolaty grzybów pochodzące z kolekcji Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej Instytutu Agrofizyki PAN w Lublinie i na podstawie uzyskanych wyników do dalszych badań wybrała 20 izolatów *Neosartorya*. Proszę o doprecyzowanie jaką liczbę izolatów zbadano/identyfikowano na początku realizacji pracy doktorskiej? Czy pozostałe izolaty reprezentowały inne rodzaje grzybów?
2. Czy doktorantka zdeponowała w publicznych bazach danych sekwencje genowe na podstawie których dokonała identyfikacji izolatów?

Komentarz:

Strona 44 „... odważono 20 mg grzybní, a rozdrabnianie tkanek przeprowadzono za pomocą kul...”
Grzyby nie są organizmami tkankowymi. Poprawne byłoby „odważono 20 mg grzybní, którą rozdrobniono za pomocą kul...”

W rozdziale „**Omówienie wyników publikacji oraz badań uzupełniających**” doktorantka opisuje w sposób syntetyczny rezultaty badań przedstawione w poszczególnych artykułach naukowych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.

Przeprowadzone badania zaowocowały bardzo dużą ilością wyników, z których część doktorantka opublikowała w dwóch artykułach naukowych, w międzynarodowych czasopismach, a dwa kolejne manuskrypty z wynikami badań są gotowe do złożenia w renomowanych czasopismach. Wyniki w tych publikacjach są starannie opracowane, zilustrowane w sposób czytelny i przejrzysty oraz dostosowane do wymagań czasopism. Wartościowe są wyniki wskazujące na zmiany morfologiczne grzybów traktowanych wybranymi preparatami i ich imponująca dokumentacja w postaci fotografii wykonanych przy użyciu skaningowej mikroskopii elektronowej oraz wyniki analiz genomów i zmian struktury zbiorowisk bakterii i grzybów truskawek infekowanych *Neosartorya* spp. i traktowanych środkami przeciwgrzybiczymi. Wyniki badań zostały poprawnie opracowane pod względem statystycznym. Uzyskane wyniki potwierdzają złożoność mechanizmów adaptacyjnych izolatów *Neosartorya* spp., które obejmują zmiany genetyczne, metaboliczne i strukturalne wobec stresów środowiskowych jakimi były badane substancje.

Do tej części pracy mam jednak pytanie oraz uwagi/komentarze:

1. Jak można wytłumaczyć nieskuteczność działania olejku goździkowego w stężeniu $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ na zbadane grzyby, chociaż wykazywał on działanie hamujące wzrost grzybów w niższym stężeniu $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ oraz w wyższych stężeniach (150 i $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$)?
2. Strona 69: „Geny te odpowiadały głównie za rozpoznawanie patogenów, produkcję substancji przeciwwirusowych i antybiotyków oraz odpowiedź immunologiczną”. Odpowiednie byłoby stwierdzenie „Geny te odpowiadały głównie za obronę przed patogenami (ang. pathogen defense). Do

tego fragmentu powinna być zacytowana Rycina 2. Ponadto, w legendzie Ryciny 2 nie znajdują się opisy dotyczące obecności genów kodujących „produkcję substancji przeciwwirusowych i antybiotyków oraz odpowiedzi immunologicznej” u zbadanych 5 izolatów.

3. W większości opisu dysertacji Doktorantka stosuje określenie „odporność” grzybów w stosunku do badanych substancji (lub mechanizmy odporności), za wyjątkiem strony 57, gdzie używa określeń „mechanizmów oporności”, „poziomem oporności” czy „oporności na konserwanty”. Proszę o wyjaśnienie różnicy (jeśli występuje) podczas obrony pracy doktorskiej.

Kolejny rozdział rozprawy stanowi „**Podsumowanie i wnioski**”. Doktorantka zwięźle podsumowała uzyskane w ramach rozprawy wyniki badań i sformułowała jedenaście trafnych wniosków, co potwierdza jej zdolność do syntetycznego ujęcia rezultatów pracy.

Dyskusja wyników badań w poszczególnych publikacjach jest rzeczowym, ale też krytycznym ich omówieniem z równoczesnym wykorzystaniem w ich interpretacji wyników innych badaczy.

Cała praca wskazuje na dojrzałość naukową doktorantki i pokazuje, że mgr Wiktoria Maj swobodnie porusza się w światowej literaturze dotyczącej tematyki badawczej. Doktorantka zebrała bogate „**Piśmiennictwo**”, w którym w mojej ocenie, znajdują się ważne publikacje dotyczące zakresu prowadzonych przez nią badań, które w zdecydowanej większości ukazały się w ciągu ostatnich dziesięciu lat. Zebraną literaturę umiejętnie wykorzystała.

Podsumowując ocenę merytoryczną, stwierdzam, że mgr Wiktoria Maj uzyskała wiele cennych wyników, które wpisują się w światową dyskusję nad problemem rosnącej oporności wśród grzybów patogennych dla roślin, obecnych strategii ich zwalczania i rozwijania metod alternatywnych, nieszkodliwych dla środowiska i konsumentów w drodze do osiągnięcia zrównoważonego rolnictwa. Oceniając zbiór trzech opublikowanych artykułów i dwóch manuskryptów artykułów naukowych, powiązanych ze sobą tematycznie i wzajemnie się uzupełniających oraz ich opis, stwierdzam, że Doktorantka wykazała się ogólną wiedzą teoretyczną w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo, pozwalającą jej na właściwą ocenę otrzymanych wyników badań, posiadała umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Zakres badań przeprowadzonych przez Doktorantkę, prezentowanych w rozprawie, wskazuje na to, że mgr Wiktoria Maj jest bardzo dobrze przygotowana do pracy naukowej, posiadając umiejętność posługiwania się szerokim wachlarzem technik badawczych. Rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wnosi ona do nauki istotne informacje poszerzające stan wiedzy na temat mechanizmów oporności *Neosartorya* spp. oraz oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania uzyskanych wyników badań naukowych w sferze gospodarczej do opracowania skutecznych strategii ograniczania rozwoju grzybów *Neosartorya* spp. w łańcuchu produkcji żywności oraz wspierania rozwoju bardziej zrównoważonych i selektywnych metod utrwalania owoców miękkich.

Z dokumentacji dołączonej do dysertacji wynika, że doktorantka wykazywała znaczącą aktywność naukową. Była wykonawcą w dwóch projektach badawczych finansowanych z NCN i Programu Operacyjnego Infrastruktura i Środowisko oraz dwóch dydaktycznych, odbyła krótkoterminowe staże naukowe, w tym 3-miesięczny, zagraniczny staż naukowy w Medical Mycological Research Center of Chiba University w Japonii i wielokrotnie prezentowała wyniki swoich badań na konferencjach międzynarodowych i ogólnopolskich. W swoim dorobku Doktorantka ma również osiągnięcia organizacyjne i popularyzujące naukę, jak

zaangażowanie w organizację konferencji naukowych i członkostwo w studenckim kole naukowym. Jej osiągnięcia naukowe były wielokrotnie dostrzegane i nagradzane na konferencjach naukowych, stypendiami Prezydenta Miasta Lublin, Marszałka Województwa Lubelskiego i JM Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Mgr Wiktoria Maj podczas swojego kształcenia nieustannie podnosiła swoje kwalifikacje uczestnicząc w kilkunastu szkoleniach i odbywając praktyki zawodowe.

Podczas czytania i analizy rozprawy nasunęły mi się pytania, które chciałabym zadać doktorantce podczas obrony rozprawy doktorskiej.

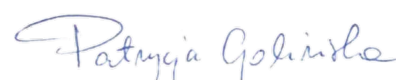
1. Czy Doktorantka dokonała identyfikacji zbadanych izolatów grzybowych na podstawie WGS i porównała podobieństwo izolatów pomiędzy sobą wykorzystując WGS? Jeśli nie to dlaczego? W pracy na tronie 247 podano, że przeprowadzono analizy ANI (average nucleotide identity), ale wyników tych analiz nie znalazłam w dołączonym manuskrypcie. Czy istnieją jakieś ograniczenia w zakresie analiz filogenomowych u grzybów?

5. Ocena końcowa

Rozprawa doktorska mgr Wiktorii Maj pt.: „Rola właściwości metabolicznych, morfologicznych i genetycznych grzybów *Neosartorya* spp. (*Aspergillus* spp.) w kształtowaniu ich odporności na związki konserwujące, chemiczne oraz naturalne ekstrakty roślinne” jest opracowaniem wnoszącym istotny wkład w rozwój mikrobiologii. W cyklu opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych Doktorantka zaprezentowała bardzo dobrą znajomość problematyki badawczej, stanowiącej rozprawę doktorską. Na podstawie ocenianej rozprawy doktorskiej można stwierdzić, że Doktorantka zapoznała się z dużym wachlarzem metod badawczych i analitycznych, co sprawia, że posiada wysokie kompetencje i dobre przygotowanie do pracy badawczo-laboratoryjnej i naukowej. Udowodniła, że potrafi rozwiązywać problemy naukowe i posiada teoretyczną wiedzę w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Pokazała, że ma umiejętność opracowania, interpretacji i dyskusji uzyskanych wyników z wynikami dostępnymi w obszernej literaturze o zasięgu międzynarodowym.

Stwierdzam, że recenzowana rozprawa mgr Wiktorii Maj spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2023r., poz. 742 ze zmianami) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN w Lublinie o dopuszczenie mgr Wiktorii Maj do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Wiktorii Maj ze względu na znaczący wkład w zakresie wiedzy o złożoności mechanizmów adaptacyjnych grzybów *Neosartorya* spp. (*Aspergillus* spp.) w kształtowaniu ich odporności na związki konserwujące, chemiczne oraz naturalne ekstrakty roślinne, oraz potencjalnym wykorzystaniu wyników badań do opracowania skutecznych i zrównoważonych strategii przeciwdziałania psuciu się żywności, a także ze względu na zastosowanie szerokiego i nowoczesnego warsztatu badawczego oraz bardzo dużą wartość naukową publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej i przeprowadzonych eksperymentów.



Prof. dr hab. Patrycja Golińska