



WYDZIAŁ BIOTECHNOLOGII

ZAKŁAD BIOTRANSFORMACJI

ul. Joliot Curie 14a
50-383 Wrocław

tel. +48 71 375 62 38 | +48 71 375 62 50

biotrans@uni.wroc.pl | www.biotrans.uni.wroc.pl

Dr hab. Anna Krasowska prof. UWrocław
Zakład Biotransformacji
Wydział Biotechnologii
ul. F. Joliot-Curie 14a
50-383 Wrocław

Wrocław, 31.01.2025 r.

Recenzja

Rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Anny Walaszczyk

pt. „Szczepy *Bacillus* i *Pseudomonas*

*zdolne do produkcji biosurfaktantów – charakterystyka mechanizmów
aktywności przeciwgrzybowej i ocena potencjału aplikacyjnego w obecności
wybranych zanieczyszczeń antropogennych*”

wykonanej pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Paraszkievicz prof. Uniwersytetu
Łódzkiego,

w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii

Instytutu Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii

W rozprawie doktorskiej pani mgr Aleksandra Anna Walaszczyk scharakteryzowała wybrane szczepy bakteryjne z rodzajów *Bacillus* i *Pseudomonas* pod kątem ich aktywności przeciw grzybom *Fusarium*, wpływu na przeżywalność tych grzybów, przepuszczalność błon grzybni, jej skład lipidowy i kiełkowanie zarodników. Ponadto Doktorantka przebadła wpływ testowanych szczepów bakterii na wzrost korzeni siewek ogórka siewnego, jak i ich aktywność przeciwgrzybową wobec *Fusarium* z wykorzystaniem nasion ogórka siewnego. W tej części badań Doktorantka wyłoniła szczep *Bacillus* sp. Kol B9, o wysokim potencjale aplikacyjnym. Szczep ten chronił nasiona i siewki ogórka przed niekorzystnym wpływem grzybów *Fusarium*.

Pani magister Walaszczyk przebadła również zdolności danych szczepów bakteryjnych do produkcji biosurfaktantów z rodzaju cyklicznych lipopeptydów w obecności grzybów *Fusarium*, a także w obecności barwników azowych, mikroplastiku, herbicydów i fungicydów. Zastosowała również hodowle mieszane, zawierające dwa szczepy *Bacillus* i prowadzone w obecności fungicydów oraz oznaczyła w tych warunkach aktywność przeciwgrzybową i produkcję biosurfaktantów.

Mimo rosnącej świadomości ekologicznej, wciąż jeszcze do ochrony roślin w większości przypadków stosuje się syntetyczne pestycydy, które przyczyniają się często do skażenia środowiska, stanowiąc zagrożenie dla zdrowia i życia. Bakterie z rodzajów *Bacillus* i *Pseudomonas* znane są między innymi z tego, że wspomagają wzrost roślin, chroniąc je przed zakażeniem grzybami, a także, dzięki wydzielanym metabolitom biorą udział w bioremediacji gleb i wód. Dlatego należy poszukiwać szczepów o odpowiednich uzdolnieniach metabolicznych, które można stosować w środowisku naturalnym bez obaw o ich negatywny wpływ. Z powyższych powodów uważam, że temat badawczy podjęty przez panią Aleksandrę Annę Walaszczyk w pracy doktorskiej jest słuszny i bardzo ważny.

Ocena poprawności struktury pracy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska liczy 247 stron i ma układ hybrydowy. W jej skład wchodziły rozdziały takie jak: *Wprowadzenie*, *Cele Pracy*, *Materiały*, *Metody*, *Wyniki*, *Dyskusja* i *Literatura*. Dodatkowo część materiałów, metod i wyników została opisana w dwóch publikacjach, w których pierwszym autorem jest pani Walaszczyk, a które zostały umieszczone w pracy doktorskiej po rozdziałach V 6.3 i V 6.6 opisujących wzrost szczepów, produkcję biosurfaktantów i aktywność przeciwgrzybową bakterii *Bacillus* i *Pseudomonas* w obecności kolejno: herbicydów i fungicydów. Taka forma pracy doktorskiej jest dopuszczona na podstawie interpretacji przez Radę Doskonałości Naukowej (RDN) ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z późniejszymi zmianami, i wydanych rozporządzeń Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Ocena merytoryczna rozprawy

W rozdziale *Wprowadzenie*, który liczy 14 stron Doktorantka zamieściła informacje pomagające w zrozumieniu zaplanowanych badań. Opisane są bakterie z rodzaju *Bacillus*, mechanizmy ich wpływu na rozwój roślin i wymienione są syntezowane przez nie związki przeciwdrobnoustrojowe. Natomiast opis bakterii z drugiego rodzaju, którym zajmowała się

Autorka pracy, czyli *Pseudomonas* zawarty jest jedynie w kilkunastu liniach tekstu i według mojej opinii brakuje w nim choćby (adekwatnie do opisu *Bacillus*) wyszczególnienia mechanizmów ochrony roślin czy metabolitów przeciwdrobnoustrojowych. Więcej wiadomości Doktorantka zamieściła o biosurfaktantach syntezowanych przez oba rodzaje bakterii. Natomiast ostatni podrozdział zatytułowany *Bieżące Wyzwania*, traktujący między innymi o zanieczyszczeniach mikroplastikiem i barwnikami azowymi znów jest krótki i zawiera jedynie ogólne stwierdzenia i brakuje informacji o np. mechanizmach toksyczności tych związków.

W *Celach Pracy* Autorka wymienia cel nadrzędny, do którego osiągnięcia przyczyniło się sześć celów szczegółowych. Cele są jasno sformułowane, a ich wybór słuszny.

Należy podkreślić, że Doktorantka wykonała olbrzymią pracę, wybierając do doświadczeń aż 80 szczepów bakteryjnych (77 z rodzaju *Bacillus* i trzy z rodzaju *Pseudomonas*) i wykonując na nich większość testów, w wyniku których wybrała szczepy o najbardziej obiecujących właściwościach do dalszych badań.

Praca doktorska zawiera wiele wykresów, zdjęć i tabel co niewątpliwie pomaga czytelnikowi zrozumienie wyników i ich interpretację.

W trakcie zapoznawania się z przedstawioną do recenzji rozprawą doktorską, nasunęły mi się pytania. Autorka pracy chciała wykazać związek pomiędzy intensywnością produkcji cylicznych lipopeptydów przez bakterie z aktywnością przeciwgrzybową. Chociaż inne zespoły badawcze, cytowane przez Doktorantkę wykazały przeciwgrzybowy wpływ biosurfaktantów, to jednak, wydaje się, że w niniejszej pracy nie udało się takiego wpływu jednoznacznie określić. Być może przyczyną jest stosowanie szczepów, a nie oczyszczonych biosurfaktantów. Czy Autorka pracy próbowała stosować czystą surfaktynę lub iturynę? Wyniki otrzymane w pracy doktorskiej miały służyć oczywiście potencjalnemu zastosowaniu aplikacyjnemu, a zatem stosowanie szczepów w bioremediacji czy uprawie roślin byłoby znacznie tańsze niż użycie wyekstrahowanych biosurfaktantów. Jednak według mojej opinii nie można na podstawie otrzymanych wyników stwierdzić, że aktywność badanych szczepów przeciw *Fusarium* występuje głównie dzięki produkowanym lipopeptydom. Autorka pracy także ma takie wątpliwości, które zamieszcza w *Dyskusji*, na przykład na stronie 178 pisze o innych metabolitach, np. enzymach, które mogą działać przeciwgrzybowo, a na stronie 184 jest informacja o tym, że wyższy poziom surfaktyny i/lub ituryny w hodowli nie wiązał się z wyższą aktywnością przeciwgrzybową.

W sekcji *Wnioski i Stwierdzenia Końcowe* Autorka w punkcie 3 części A stwierdza, że aktywność przeciwgrzybowa wiąże się ze wzrostem przepuszczalności błon komórek grzybni,

co wskazuje na duże znaczenie w tym procesie biosurfaktantów. Według mnie, także inne niż biosurfaktanty metabolity mogą zwiększać przepuszczalność błon i tu także przydałoby się zastosować porównawczo czyste biosurfaktanty.

We wnioskach 2 i 3 części B Autorka pracy stwierdza, że barwniki azowe ograniczają produkcję biosurfaktantów, ale ksenobiotyki te nie wpływają lub podnoszą aktywność przeciwgrzybową badanych szczepów. Jest to jeszcze jedna przesłanka sugerująca, że to nie biosurfaktanty działają przeciwgrzybowo, a przynajmniej, że jest to jakiś efekt synergistyczny.

Chciałabym się jeszcze dowiedzieć jak można byłoby wyjaśnić odmienny wpływ związków lotnych na grzybnię powietrzną dwóch szczepów *Fusarium*, czyli *F. culmorum* i *F. sambucinum*?

Na rycinie 20, na stronie 78 Autorka pracy obrazuje znaczną promocję wzrostu niektórych szczepów bakterii przez mikroplastik. Jest to bardzo interesujący wynik, sugerujący rozkład mikroplastiku, który może służyć bakteriom na przykład jako źródło węgla. Czy wiadomo w jakim stopniu mikroplastik uległ biodegradacji?

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki są interesujące i na pewno otwierają drogę do dalszych badań, mogących przynieść nie tylko ciekawe naukowo rezultaty, ale także zastosowania aplikacyjne.

Ocena strony edytorskiej rozprawy

Rozprawa doktorska została napisana poprawnym językiem polskim, występują czasem błędy nazywane potocznie „literówkami”, czego w tak obszernej pracy trudno było uniknąć.

Podsumowanie

Rozprawa doktorska pani mgr Aleksandry Anny Walaszczyk pt. „*Szczepy *Bacillus* i *Pseudomonas* zdolne do produkcji biosurfaktantów – charakterystyka mechanizmów aktywności przeciwgrzybowej i ocena potencjału aplikacyjnego w obecności wybranych zanieczyszczeń antropogennych*” stanowi oryginalne rozwiązanie problemów naukowych. Jeszcze raz pragnę podkreślić duży nakład pracy jakiego dokonała Doktorantka, wykazując się umiejętnością interpretacji i wyciągania wniosków z uzyskanych rezultatów. Wyniki otrzymane przez Doktorantkę otwierają jak najbardziej dalsze perspektywy badawcze i aplikacyjne, a przedłożona praca doktorska potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Przedstawione przeze mnie uwagi i wątpliwości mają charakter polemiczny, wynikają również z mojego zaciekawienia i nie umniejszają wartości naukowej rozprawy. Moja recenzja jest jak najbardziej pozytywna.

W związku z powyższym stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca spełnia wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, wraz z późniejszymi zmianami (Dz. U. z 2023 r. poz. 742). W związku z tym wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie rozprawy doktorskiej pani mgr Aleksandry Anny Walaszczyk do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Dr hab. Anna Krasowska prof. UWr