

dr hab. Krzysztof Matkowski
prof. UP we Wrocławiu
Katedra Ochrony Roślin
Zakład Fitopatologii i Mykologii
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław 16.02.2022 r.

DZIEKANAT WYDZIAŁU
BIOTECHNOLOGII I OGRODNICTWA

Wpłynęło dnia 23.02.2022
WBO-D 520-3.7/01/2022

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. inż. Joanny Micek
p.t. „Wpływ grzybów strzępkowych *Mycota* występujących w powietrzu
atmosferycznych magazynów przechowalniczych na zdrowotność warzyw”
wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Marii Kowalik**

Stan zdrowotny roślin jest istotny dla producentów i dystrybutorów żywności nie tylko w czasie ich uprawy, ale również po zbiorze, podczas przechowywania, transportu a nawet sprzedaży. Nasiona zbóż, warzywa i owoce to ciągle organizmy żywe podatne na zakażenia. Dlatego z ekonomicznego punktu widzenia utworzenie optymalnego systemu ochrony płodów rolnych na każdym z etapów uprawy, a potem szeroko pojętego przetwarzania, przyniesie wymierne korzyści. Szczególnie w przypadku warzyw gdzie koszty uprawy są duże. To zazwyczaj tzw. uprawy intensywne.

O ile parametry fizyczne mające wpływ na stan przechowywanych produktów rolnych stosunkowo łatwo jest poddać standaryzacji oraz kontrolować ich poziom, trudniej ocenić, a tym samym zminimalizować zagrożenie przez powszechnie obecne w powietrzu struktury propagacyjne grzybów i bakterii. Zarówno we *Wstępie* jak i bardzo obszernym i szczegółowym *Przeglądzie literatury* autorka, opierając się na licznych publikacjach opisuje te zagadnienia, ilustrując w sposób interesujący rozkład strat i marnotrawstwo żywności na wykresach.

Ze względu na zmiany zachodzące w strukturze źródeł pozyskiwania energii koszty produkcji warzyw i owoców będą rosły. Coraz droższa i mniej dostępna jest i będzie woda, nawozy i inne środki produkcji. Rynki globalne są coraz bardziej otwarte, a tym samym konkurencyjne. Zawęża się margines opłacalności produkcji

ogrodniczej. Dystrybutorzy żywności szukają oszczędności na wszystkich etapach łańcucha „od pola do konsumenta”.

Autorka dysertacji dostrzega ten problem i próbuje go rozwiązać koncentrując się w swoich badaniach na ważnym etapie przechowywania warzyw i owoców, również, co cenne, w kontekście poszukiwania działań zaradczych. Przedstawiając cel pracy założyła, że badania obejmować będą nie tylko ocenę poziomu zagrożenia opartego na monitoringu liczebności struktur oraz składu gatunkowego micromycetes obecnych w powietrzu magazynów, ale również analizę poziomu ich patogeniczności wobec przechowywanych gatunków warzyw. W oparciu o te założenia postawiono dwie hipotezy badawcze. Trzecia hipoteza dotyczyła oceny działania ozonu jako czynnika dezynfekcyjnego.

Autorka dysertacji słusznie zauważa, że powietrze atmosferyczne nie jest miejscem aktywnego rozwoju mikroorganizmów. To ważne dla biosfery medium w którym przemieszczają się rozproszone w powietrzu mikroorganizmy, niekiedy również produkty ich metabolizmu. Pionowe i poziome ruchy powietrza zależne od gradientu temperatury, powodują przemieszczanie na znaczne odległości propagul różnych organizmów, w tym grzybów. W warunkach bezwietrznych struktury te sedymentują np. na roślinach, a w przypadku ocenianym i analizowanym, również na przechowywanych warzywach, będąc potencjalnym źródłem ich zakażenia. Z tego też względu kluczowe dla analizy poziomu zagrożeń biodeterioracją były badania składu gatunkowego grzybów, a w kolejnym etapie ocena ich patogeniczności w stosunku do konkretnych gatunków roślin. Skład gatunkowy, to również wiedza o poziomie koncentracji struktur. Z kolei ich morfologia ma wpływ na skuteczność docierania do przestrzeni magazynowej.

Badania tego typu są zawsze pracochłonne, dlatego nie są powszechnie wykonywane. Najczęściej dotyczą konkretnych czynników chorobowych, sposobów przemieszczania materiału zakaźnego lub warunków fizycznych mających wpływ na rozwój mikroorganizmów. Przedstawiona do oceny dysertacja to praca rozbudowana w kontekście naukowym, ujmująca różnorodne metody badawcze, łącząca wiele

aspektów poznawczych z bardzo konkretnym rozwiązaniem praktycznym. Przystawione do oceny opracowanie to udana próba korelacji danych mykologicznych uzyskanych z mało stabilnej przestrzeni jakim jest powietrze z oceną ryzyka kontaminacji warzyw oraz metodami ich bezpiecznej dezynfekcji. W literaturze przedmiotu można znaleźć wiele prac naukowych dotyczących micromycetes, wchodzących w skład bioaerozolu oraz ich wpływu na stan zdrowotny roślin. Liczne prace dotyczą obecności grzybów w budynkach, najczęściej w aspekcie zdrowia człowieka. Opracowania te jednak rzadko są wielowątkowe i oparte o tak bogaty materiał jaki można znaleźć w ocenianej pracy.

Z punktu widzenia poprawności metodycznej zakres badań został logicznie i trafnie dobrany, a hipotezy badawcze jasno sformułowane. W obszernym opracowaniu naukowym zawarto istotne elementy oceny ryzyka mikrobiologicznego dotychczas kompleksowo niebadanego w przestrzeni magazynowej. Również w takim sensie, rozprawa doktorska jest nowatorska, ma istotny walor naukowy oraz aplikacyjny.

Przeгляд literatury zawarty w dysertacji jest obszerny i zawiera wszystkie niezbędne informacje o stanie wiedzy z zakresu tematycznego opracowania. Na 14 stronach podzielonych na 4 podrozdziały czytelnik znajdzie informacje:

- zbiorowiskach grzybów w powietrzu;
- metodach badań i separacji struktur propagacyjnych z powietrza;
- produkcji warzyw w Polsce i Unii Europejskiej;
- przechowalnictwie i zagrożeniach przez grzyby.

W ostatnim podrozdziale zawarto przegląd wiedzy dotyczący ozonu i ozonowania. Zważywszy na wagę zawartych tam informacji oraz przeprowadzone przez autorkę badania z tym gazem, wydzieliłbym tą część jako równorzędną z innymi podrozdziałami. Autorka jednak uznała, że dezynfekcja ozonem jest elementem przechowalnictwa, stąd taka decyzja dotycząca struktury tekstu w tym rozdziale.

Bardzo interesująca dla czytelnika jest analiza stanu wiedzy dotycząca strat pojawiających się na poszczególnych etapach produkcji i dystrybucji warzyw oraz

przyczyn ich powstawania. W *Przeglądzie literatury* przytoczono liczne wyniki badań krajowych i zagranicznych, podkreślono znaczenie cech fizjologicznych przechowywanych roślin oraz obecnych w magazynach organizmów patogenicznych i saprotroficznych. W dobrze udokumentowanych treściach powołano się na większość prac zamieszczonych w spisie literatury. Pozostałe z blisko 250 ujętych w dysertacji pozycji bibliograficznych, w tym kilka uzyskanych ze źródeł internetowych, zostały zacytowane w innych rozdziałach. Przytaczana przez doktorantkę literatura została starannie dobrana. Obejmuje wszystkie ważne pozycje dotyczące tematu dysertacji zamieszczone często w renomowanych czasopismach naukowych. W omawianym rozdziale zawarto wszystkie elementy mające odzwierciedlenie w planowanych i wykonanych badaniach. Zakres tematyki, jak również analiza materiału bibliograficznego świadczy o dużym nakładzie pracy doktorantki i jej ogromnej wiedzy z zakresu aeromycologii i fitopatologii. O wysokim poziomie merytorycznym „*Przeglądu literatury*” świadczy brak informacji podręcznikowych, oczywistych i podstawowych. Autorka koncentrowała się na przekazywaniu informacji stricte naukowej, opartej na oryginalnych opracowaniach.

Zastosowane w pracy metody badawcze zostały właściwie dobrane i precyzyjnie opisane z rozdziale „*Badania własne*” , podrozdziale „*Materiał i metody*”. Szczegółowo opisano technikę przechowywania warzyw w magazynach chłodniczych. Można było nieco zredukować lub skrócić ogólny opis magazynów firmy Amplus zawarty z rozdziale 3.2.1.1. Szczegółowe informacje dotyczące obiektów i parametrów fizycznych mikroklimatu zawarto w rozdziale 3.2.2., co jest metodycznie wystarczające. Poboru prób powietrza, z separacją propagul grzybów na podłożu mikrobiologicznym, dokonano metodą impaktową dającą gwarancję powtarzalności wyników. W do analizy uzyskanych wyników zastosowano powszechnie stosowane miary ekologiczne. Test patogeniczności zaplanowano i wykonano prawidłowo.

Najcenniejszymi i najbardziej obszernymi elementami rozprawy są wyniki badań. Zamieszczono je na 41 stronach, w 51 tabelach i 8 wykresach. W pracy znalazły się również fotografie dokumentujące testy infekcyjne. Autorka wyosobniła z

powietrza magazynów blisko 20 000 kultur grzybów. Zidentyfikowała 60 gatunków tych organizmów należących do 26 rodzajów. Na podstawie testów infekcyjnych wskazano, które z tych gatunków są patogeniczne dla roślin. Aby wykonać tak obszerną pracę autorka musiała opanować szeroki zakres specjalistycznej wiedzy z zakresu mykologii. Wyniki badań zostały udokumentowane starannie i w przemyślany sposób. Liczne dane źródłowe umieszczono w *Aneksie*. Dzięki temu w syntetycznych tabelach zawartych w rozdziale *Wyniki badań* nie ma zbędnych danych, co ułatwia percepcję bogatego materiału badawczego.

Szkoda, że w opisie wyników badań w szerszym zakresie nie analizowano obecności propagul grzybów stosując ich względną miarę obecności jtk (cfu) w przeliczeniu na 1 m³ powietrza. Jest to powszechnie stosowany parametr w tego typu badaniach. Na szczęście w *Dyskusji wyników* autorka bardzo często odnosi się do tego wskaźnika obecności struktur mikroorganizmów.

W wielu miejscach pracy doktorskiej autorka używa określenia stężenie np. propagul, struktur grzybów, itp. Jest to nieuprawnione. W języku potocznym, wg słownika PWN stężenie jest zawartością składnika w jednostce objętości lub masy substancji. W dziedzinie chemii stężenie jest precyzyjnie definiowane: molowe, procentowe itp.. Propagule są wprawdzie jakąś „zawartością” w jednostce objętości atmosfery, są to jednak twory różnorodne, podobnie jak różnorodny jest skład jednego metra sześciennego atmosfery. Znacznie lepiej i poprawniej przy opisywaniu obecności struktur grzybów w wodzie czy powietrzu używać określeń, liczebność struktur grzybów lub jednostek tworzących kolonie.

Obecnie taksonomia grzybów szybko się zmienia. Dlatego dobrym pomysłem doktorantki było tabelaryczne zestawienie nazw gatunkowych grzybów zidentyfikowanych na podstawie różnorodnych monografii z nazwami zawartymi w bazie *Index Fungorum*. Pozwoliło to na jednoznaczną ocenę przyjętego nazewnictwa. Jednocześnie, zamieszczając w tej samej tabeli oznaczenia autorów przy nazwach gatunkowych, doktorantka uniknęła wielokrotnego ich wypisywania w tekście.

Materiał graficzny (tabele i wykresy) zawarty w pracy doktorskiej jest przejrzysty, dobrze zaprojektowany i opisany. Autorka umiejętnie komentuje zawarte tam dane unikając powtórzeń informacji. Dobrze się to czyta. Rolą komentarza do faktografii naukowej jest synteza treści. I taką właśnie skondensowaną formę można znaleźć w rozdziale *Wyniki badań*. „*Dyskusja*” to przykład umiejętnego konfrontowania wiedzy przekazanej przez innych z własnymi wynikami badań. Rozdział ten ma dobrze wyważoną strukturę i podział zawartości treści. W praktycznie każdym akapicie prezentowane fakty są umiejętnie interpretowane. Rozdział jest bardzo obszerny, tłumaczy to jednak szeroki zakres pracy.

Wnioski zostały sformułowane prawidłowo. Moje wątpliwości budzi jedynie zbyt rozbudowany wniosek 1. dotyczący bogactwa mycobiota w powietrzu magazynów. Jest to prawda. Uzyskane zbiorowiska były bardzo bogate. Jednak nie metoda poboru miała na to wpływ, ani zastosowany miernik, a inne czynniki. Komentarz wstępny w tym wniosku jest w mojej opinii zbędny, sugeruje wysoką skuteczność urządzenia. Nie to jednak było badane. Poboru prób powietrza dokonywano tylko jednym przyrządem. Nie wykonywano jego estymacji.

Wnioski w pracy naukowej to wnioski z badań i zazwyczaj powinny być ograniczone do treści zawartych w hipotezach badawczych. W tej konkretnej pracy, naukowej szeroko rozbudowane podsumowanie wyników znajduje jednak uzasadnienie. Dysertacja ma duży walor praktyczny. Uzyskane wyniki badań pozwalają, a wręcz zachęcają do stosowania ozonu jako środka dezynfekcyjnego. Autorka bardzo dokładnie udokumentowała działanie tego gazu w różnych stężeniach, a zastosowany w magazynie przenośny namiot uniemożliwiający niekontrolowany wypływ gazu jest godny polecenia we wszystkich magazynach żywności. To ciekawe, skuteczne, a zarazem proste rozwiązanie techniczne. W przedstawionej do oceny pracy wskazano również wyraźnie na znaczenie monitoringu mikrobiologicznego. Kontrola tego typu powinna być standardem we wszystkich przechowalniach.

Praca doktorska została wykonana i zredagowana bardzo dobrze. Kilka krytycznych uwag recenzenta, głównie redakcyjnych, nie umniejsza jej jakości. Dysertacja w mojej opinii jest wyróżniająca pod względem zakresu badań oraz umiejętności operowania wielowątkowymi dobrze udokumentowanymi wynikami. Wyniki badań, szczególnie z zakresu diagnostyki zagrożeń mikrobiologicznych oraz metod zapobiegania wnoszą nowe elementy poznawcze. Są cenne ze względów naukowych i praktycznych. Praca zasługuje na wyróżnienie.

Stwierdzam bez zastrzeżeń, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest oryginalnym opracowaniem naukowym. W związku z powyższym autorka pracy, mgr inż. Joanna Micek spełnia kryteria osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora określone w art. 186 i 187 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 20 lipca 2018 r. i wnoszę o dopuszczenie pani Joanny Micek do publicznej obrony pracy.

Krzysztof Matkowski

