

Łódź, dn. 25.05.2026 r.

Prof. dr hab. Katarzyna Lisowska
Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii
Uniwersytet Łódzki

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. Matteo Marangi

**„Potential of *Salicornia europaea* in decreasing colonization of plants by Human
Pathogenic Microorganisms“**

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska wykonana została pod kierunkiem prof. dr hab. Katarzyny Hryniewicz z Katedry Mikrobiologii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu i prof. dr hab. Christela Bauma z Uniwersytetu w Rostocku w Niemczech.

Celem badań podjętych w rozprawie było określenie interakcji pomiędzy halofitem *Salicornia europaea* a drobnoustrojami chorobotwórczymi stanowiącymi istotne zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności w kontekście chorób przenoszonych drogą pokarmową. Problematyka pracy wpisuje się w niezwykle aktualny nurt badań dotyczących zrównoważonego rolnictwa oraz bezpieczeństwa żywnościowego. Postępujące zmiany klimatyczne intensyfikują proces degradacji gleb związany z ich zasoleniem, co uznawane jest za jedno z kluczowych wyzwań społeczno-ekonomicznych i środowiskowych w skali globalnej. Zasolone gleby są w znacznym stopniu nieprzydatne dla konwencjonalnych systemów produkcji rolnej, dlatego halofity wskazywane są jako perspektywiczna i zrównoważona alternatywa dla upraw prowadzonych w takich warunkach środowiskowych. *Salicornia europaea*, ceniona ze względu na swoje właściwości odżywcze i potencjał gospodarczy, zyskuje coraz większe znaczenie jako ekonomicznie uzasadniona roślina uprawna przeznaczona do wykorzystania na glebach

zasolonych. Ze względu na wykorzystanie *S. europaea* w postaci nieprzetworzonej, zasadne jest zbadanie potencjalnej roli tego halofitu jako nośnika mikroorganizmów patogennych dla człowieka oraz określenie charakteru interakcji pomiędzy rośliną a drobnoustrojami chorobotwórczymi w aspekcie produkcji bezpiecznej żywności. Patogeny ludzkie, takie jak *Salmonella*, *Escherichia coli* czy *Listeria monocytogenes*, mogą występować w uprawach roślin jadalnych, stwarzając istotne zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności oraz zdrowia publicznego w kontekście chorób przenoszonych drogą pokarmową związanych ze spożyciem świeżych produktów roślinnych. Pomimo wdrażania licznych działań mających na celu poprawę higieny produkcji żywności, na świecie nadal odnotowuje się ogniska chorób związanych z mikrobiologicznym skażeniem produktów rolnych. Źródłem drobnoustrojów chorobotwórczych dla człowieka mogą być m.in. zanieczyszczone gleby nawożone nawozami organicznymi, uprawy nawadniane skażoną wodą oraz odchody zwierząt wolno żyjących. Wzrastająca liczba chorób wywołanych przez te mikroorganizmy może wiązać się między innymi ze zwiększającą się produkcją i konsumpcją świeżych warzyw, co pozostaje w związku z popularyzacją zdrowego stylu życia oraz diety bogatej w świeże produkty roślinne. Dodatkowo intensyfikacja produkcji warzyw, ukierunkowana na zaspokojenie rosnącego zapotrzebowania konsumentów, może sprzyjać zwiększeniu ryzyka skażenia mikrobiologicznego. W związku z tym istnieje wyraźna potrzeba prowadzenia badań nad opracowaniem innowacyjnych strategii wspierających bezpieczeństwo żywnościowe oraz rozwój zrównoważonych systemów rolniczych.

Biorąc powyższe pod uwagę należy uznać, że mgr Matteo Marangi podjął się realizacji tematu bardzo aktualnego i istotnego nie tylko w aspekcie poznawczym, ale i w dużej mierze aplikacyjnym. Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że podjęte przez Doktoranta badania są nowatorskie i wnoszą istotny wkład w rozwój nauk ścisłych i przyrodniczych i dyscypliny nauki biologiczne. Należy także zwrócić uwagę, że podjęta przez Doktoranta tematyka wymagała zastosowania różnorodnego warsztatu metodycznego oraz współpracy z innymi jednostkami naukowymi, z czym mgr Matteo Marangi dobrze sobie poradził.

Rozprawa doktorska mgr. Matteo Marangi została przygotowana w formie hybrydowej w języku angielskim. Część wyników dotycząca określenia wpływu składu chemicznego pędów *S. europaea* i właściwości gleby na kolonizację tego halofitu przez wybrane bakterie

chorobotwórcze dla człowieka została opublikowana w czasopiśmie *Agronomy*, 2024, <https://doi.org/10.3390/agronomy14112740>, IF=3,4, 100 pkt MNiSW jako praca oryginalna pt. „*Abundance of Human Pathogenic Microorganisms in the Halophyte Salicornia europaea L.: Influence of the Chemical Composition of Shoots and Soils*”. Doktorant jest w tej pracy pierwszym autorem. Zgodnie z deklaracją dotyczącą wkładu autorów w przygotowanie publikacji, Doktorant uczestniczył zarówno w realizacji badań eksperymentalnych i analizie uzyskanych wyników, jak również w opracowaniu manuskryptu oraz redakcji jego ostatecznej wersji. Wyniki badań dotychczas nieopublikowanych obejmowały natomiast ocenę interakcji *S. europaea* z wybranymi drobnoustrojami w warunkach zróżnicowanego zasolenia, a także skrining bakterii endofitycznych i ryzosferowych związanych z tym halofitem pod kątem ich zdolności do syntezy lotnych związków organicznych, wykazujących aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec patogenów człowieka przenoszonych przez żywność. Publikacja oryginalna i wyniki dotychczas niepublikowane zostały przedstawione w łącznym opracowaniu liczącym 123 strony, z typowym układem prac o charakterze doświadczalnym, obejmującym rozdziały: *Wstęp, Hipotezy, Cele badawcze, Materiały i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski*. Całość zamyka rozdział poświęcony *Perspektywom dalszych badań*. Rozprawa została opatrzona streszczeniami w języku polskim i angielskim oraz zawiera 166 cytowań aktualnej literatury przedmiotu. Ponadto Doktorant przedstawił swój dorobek i przebieg działalności naukowej, z których wynika, że rezultaty prowadzonych badań prezentował także podczas międzynarodowych konferencji naukowych organizowanych m.in. w Barcelonie (Plants 2025), Reims (SolPHe 2025) oraz Bari (European Culture Collections' Organization). Dodatkowo odbył sześciomiesięczny staż naukowy w University of Rostock w Niemczech, realizowany w ramach programu NAWA.

Wstęp pracy zawiera przegląd literatury, na podstawie której Autor przedstawił dotychczasowy stan wiedzy z zakresu prowadzonych badań i wykazał celowość ich prowadzenia. Doktorant opisał globalny problem środowiskowy jakim jest zasolenie gleb. Szczególny nacisk położył na przedstawienie *Salicornia europaea* jako cennego halofitu stanowiącego alternatywę dla upraw prowadzonych na gruntach zasolonych. Wskazał także na zagrożenie jakie stwarzają drobnoustroje chorobotwórcze dla człowieka, które mogą być obecne w uprawach roślin

w kontekście rozprzestrzeniania chorób przenoszonych drogą pokarmową. Następnie opisał dotychczasowe badania nad rolą bakterii endofitycznych i ryzosferowych, produkujących lotne związki organiczne mogące ograniczać występowanie patogenów. Moim zdaniem Doktorant wykazał odpowiednią wiedzę w zakresie przedstawionej problematyki badawczej, a zagadnienia przedstawione we wstępie są dobrym podkładem teoretycznym do przeprowadzonych badań.

Cele pracy zostały przez Doktoranta przedstawione poprawnie, sformułowane w trzech punktach i obejmują: a) identyfikację kluczowych czynników środowiskowych i biochemicznych, determinujących występowanie oraz liczebność drobnoustrojów patogennych dla człowieka w glebie i tkankach *S. europaea* b) określenie czasowej i przestrzennej dynamiki kolonizacji *S. europaea* przez badane drobnoustroje oraz ocenę wpływu tej interakcji na profil ekspresji genów rośliny c) identyfikację oraz selekcję szczepów bakterii endofitycznych i ryzosferowych związanych z *S. europaea* wykazujących właściwości antagonistyczne wobec drobnoustrojów patogennych dla człowieka, ze szczególnym uwzględnieniem znaczenia lotnych związków organicznych w mechanizmach oddziaływania przeciwdrobnoustrojowego.

Opis **Materiałów i Metod** został przedstawiony w sposób przejrzysty i uporządkowany, z odniesieniem do szczegółowej charakterystyki analiz doświadczeń polowych zawartej w pracy opublikowanej w czasopiśmie *Agronomy*. Na podkreślenie zasługuje wykorzystanie przez Doktoranta szerokiego spektrum technik badawczych, obejmujących analizy biochemiczne, chromatograficzne, bioinformatyczne oraz metody biologii molekularnej, w tym analizy transkryptomyczne. Zastosowana metodyka została właściwie dobrana do realizacji założonych celów badawczych, wykorzystano także adekwatne narzędzia statystyczne.

Zasadniczy rozdział pracy **Wyniki** zawiera liczne dane eksperymentalne, które zostały dobrze przedstawione graficznie lub tabelarycznie i wyczerpująco omówione. W pierwszej części tego rozdziału Doktorant przedstawił wyniki badań doświadczenia polowego. Jest to część rezultatów, która była przedmiotem publikacji. Autor analizował metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC/MS) skład chemiczny pędów *S. europaea* oraz gleb z dwóch lokalizacji we Francji. Następnie określał liczebność wybranych drobnoustrojów patogennych dla człowieka: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* i *Bacillus cereus* w ryzosferze i glebie pozakorzeniowej, a także pędach *S. europaea*. Wybór drobnoustrojów był

bardzo trafny, gatunki te mogą stanowić bowiem poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego w kontekście chorób przenoszonych drogą pokarmową pochodzących z produktów roślinnych.

W tym miejscu mam uwagę dotyczącą badanych drobnoustrojów, ponieważ w opisie metodyki wymieniono także *Bacillus cereus*, do którego to drobnoustroju nie znalazłam odniesień w publikacji, nie załączono także materiałów, które znalazły się w suplemencie.

Doktorant dokonał analizy porównawczej czynników środowiskowych i biochemicznych mogących mieć wpływ na występowanie wybranych drobnoustrojów w celu zidentyfikowania potencjalnych biomarkerów skażenia tymi drobnoustrojami. Za istotny wynik uważam wykazanie ujemnej korelacji pomiędzy zawartością ligniny w pędach i liczebnością *S. enterica* oraz pomiędzy zawartością ligniny w materii organicznej gleby pozakorzeniowej, a liczebnością *E. coli*, co wskazuje na potencjalną ochronną rolę ligniny przed niektórymi drobnoustrojami. Ponadto Doktorant wykazał dodatnią korelację zawartości lipidów w pędach z liczebnością *E. coli*. Odczyn pH gleby oraz poziom jej zasolenia wykazywały natomiast ujemną korelację z liczebnością analizowanych drobnoustrojów, co sugeruje, że podstawowe parametry glebowe mogą stanowić istotne i łatwe do implementacji narzędzia wspierające poprawę bezpieczeństwa żywnościowego.

W drugiej części pracy Doktorant skoncentrował się na badaniach prowadzonych w warunkach *in vitro*, analizując interakcje pomiędzy *S. europaea* a trzema drobnoustrojami, w tym dwoma patogenami człowieka – *S. enterica* oraz *L. monocytogenes* – a także niepatogennym szczepem *E. coli*, w warunkach zróżnicowanego zasolenia podłoża. Uzyskane przez Doktoranta wyniki wskazują, że umiarkowany poziom zasolenia wywiera korzystny wpływ na wzrost roślin niezależnie od obecności badanych mikroorganizmów, natomiast wysokie zasolenie, współwystępujące z określonymi szczepami bakterii, może prowadzić do nasilenia inhibicji wzrostu *S. europaea*. Ponadto Doktorant dokonał oceny liczebności drobnoustrojów, w tym trzech analizowanych szczepów bakterii zasiedlających pędy oraz korzenie *S. europaea*, wykorzystując dwie metody badawcze: klasyczną metodę hodowlaną na podłożu TSA oraz analizę qPCR. Uzyskane wyniki dostarczyły nowych i wartościowych danych wskazujących, że *S. europaea* może wspierać przejściową kolonizację przez wybrane patogeny przenoszone przez żywność, w szczególności *S. enterica* i *L. monocytogenes*. Interesującym rezultatem badań

było wykazanie, że liczebność drobnoustrojów patogennych w tkankach roślinnych ulegała wyraźnemu obniżeniu pomimo początkowo wysokiej koncentracji bakterii w podłożu hodowlanym. Jednocześnie obecność tych mikroorganizmów indukowała istotne zmiany w profilu transkryptomycznym roślin, obejmujące ekspresję genów związanych z odpowiedzią na stres, biosyntezą metabolitów wtórnych oraz komórkowymi mechanizmami odpowiedzi na bodźce środowiskowe.

W ostatnim etapie pracy Doktorant przeprowadził udaną próbę skriningu drobnoustrojów wytwarzających lotne związki organiczne, które hamowałyby wzrost głównych patogenów przenoszonych przez żywność. Autor zidentyfikował i wyselekcjonował bakterie endofityczne i ryzosferowe izolowane z *S. europaea*, wykazujące istotną aktywność antagonistyczną wobec patogenów ludzkich, obejmując analizą 58 różnych szczepów. Wykazał, że cztery szczepy bakterii – *Bacillus pumilus* CSR28, *Xanthomonadales* sp. CSE34, *Streptomyces champavatii* CSR4 i *Bacillus pseudomycooides* CSE4 – znacząco hamują wzrost *E. coli*, *S. enterica* i *L. monocytogenes*. Profilowanie lotnych związków organicznych, produkowanych przez te drobnoustroje, z zastosowaniem techniki mikroekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej i chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (HS-SPME-GC-MS) wykazało, że disiarczki dimetylu (DMDS) jest kluczowym metabolitem przeciwdrobnoustrojowym. Wyniki te wskazują na potencjał naturalnie towarzyszących *S. europaea* drobnoustrojów i produkowanych przez nie lotnych związków organicznych jako zrównoważonych środków biokontroli.

Dyskusja, w mojej opinii jest kompleksowa i dobrze skonstruowana. Doktorant wnikliwie analizuje uzyskane wyniki, starannie odnosi się do postawionych hipotez i krytycznie podchodzi do własnych osiągnięć. Ponadto podkreśla potencjalne implikacje badawcze.

Wnioski Autor sformułował w trzech punktach, w których wykazał, że wszystkie postawione hipotezy zostały potwierdzone.

Podsumowując, za najważniejsze osiągnięcia Doktoranta uważam:

- Wykazanie, że skład chemiczny *S. europaea* oraz czynniki środowiskowe (takie jak pH gleby i zasolenie) odgrywają kluczową rolę w regulacji populacji drobnoustrojów

patogennych dla człowieka, co może mieć istotne implikacje dla bezpieczeństwa żywnościowego.

- Stwierdzenie, że mechanizmy odpornościowe *S. europaea* umożliwiają ograniczanie wpływu badanych przez Doktoranta drobnoustrojów, a bakterie takie jak *S. enterica* i *L. monocytogenes* są zdolne do modulowania transkryptomu rośliny podczas procesu kolonizacji.
- Wykazanie, że drobnoustroje endofityczne i ryzosferowe związane z *S. europaea* mogą stanowić obiecujące czynniki biokontroli wobec drobnoustrojów patogennych dla człowieka, znajdując potencjalne zastosowanie w strategiach zwiększania bezpieczeństwa żywnościowego w systemach rolniczych.

Pytania i uwagi dotyczące rozprawy:

1. W pierwszej części pracy analizowano cztery różne drobnoustroje chorobotwórcze dla człowieka. W dwóch kolejnych częściach wybrano dwa drobnoustroje chorobotwórcze *S. enterica* i *L. monocytogenes* i jeden szczep niepatogenny *E. coli*. Jakie były kryteria doboru szczepów oraz czy uzyskane wyniki można ekstrapolować na inne patogeny przenoszone przez żywność?
2. Czy Doktorant rozważał przeprowadzenie doświadczenia z mieszaną hodowlą kilku drobnoustrojów patogennych dla człowieka?
3. W jaki sposób Doktorant interpretuje zaobserwowany w doświadczeniu *in vitro* zróżnicowany wpływ inokulacji *Salmonella enterica* na całkowitą biomasę *Salicornia europaea*, przejawiający się efektem negatywnym przy zasoleniu 0 i 100 mM oraz efektem pozytywnym przy stężeniach 50 i 200 mM?
4. Jaka była korelacja pomiędzy liczbą bakterii a zasoleniem i przyrostem biomasy w doświadczeniu *in vitro*, czy można wyciągnąć wniosek ogólny?
5. Na ile stabilna może być produkcja mVOC przez wytypowane szczepy w warunkach polowych w porównaniu z warunkami laboratoryjnymi?

Wszystkie zamieszczone uwagi i pytania mają charakter dyskusyjny i nie umniejszają wartości uzyskanych wyników i wysokiego poziomu badań.

Podsumowanie i ocena końcowa

Stwierdzam, że opiniowana rozprawa doktorska mgr. Matteo Marangi zawiera istotne elementy nowości naukowej, a uzyskane wyniki wnoszą znaczący wkład w rozwój nauk ścisłych i przyrodniczych i dyscypliny nauki biologiczne. Pod względem celowości podjęcia tematu, a także wykorzystanych metod analitycznych i uzyskanych wyników praca w pełni spełnia wymogi stawiane rozprawom na stopień naukowy doktora. Niniejsza rozprawa podkreśla złożoność oraz potencjał układów obejmujących halofity, drobnoustroje patogenne dla człowieka i mikrobiom środowiskowy, poszerzając wiedzę na temat interakcji roślina–mikroorganizm w środowiskach ekstremalnych. Badania te mają szczególne znaczenie w kontekście postępujących zmian klimatycznych oraz wyzwań związanych z zapewnieniem globalnego bezpieczeństwa żywnościowego.

Biorąc powyższe pod uwagę wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr. Matteo Marangi do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Rozprawa doktorska spełnia wymagania przewidziane w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, innych towarzyszących aktach prawnych oraz aktach wykonawczych do tej ustawy.



prof. dr hab. Katarzyna Lisowska