Olsztyn 04.07.2023 r.

Prof. dr hab. inż. Ewa Korzeniewska
Katedra Inżynierii Ochrony Wód i Mikrobiologii Środowiskowej
Wydział Geoinżynierii
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Opinia promotorska na temat pracy doktorskiej mgr Izabeli Wolak pt.:

„ Wpływ wybranych leków przeciwdrobnoustrojowych na produkcję biogazu, rozpowszechnienie genów lekooporności oraz mikrobiom zaangażowany w procesy fermentacji metanowej gnojowicy bydlęcej"

Badania prowadzone przez Panią mgr Izabelę Wolak w ramach pracy doktorskiej, realizowanej pod moją opieką promotorską dotyczyły wpływu wybranych leków przeciwdrobnoustrojowych na produkcję biogazu, rozpowszechnienie genów lekooporności oraz mikrobiom zaangażowany w procesy fermentacji metanowej gnojowicy bydlęcej. Tematyka ta, realizowana w ramach przedstawionej dysertacji związana jest z globalnym, narastającym problemem oporności na antybiotyki, także wśród mikroorganizmów zaangażowanych w procesy fermentacji metanowej (AD), obecnych zarówno w substratach AD jak i produkcie ubocznym jakim jest poferment odprowadzany najczęściej jako nawóz na pola uprawne. Wskutek powszechnego występowania antybiotyków w substratach, istnieje możliwość niekorzystnego oddziaływania farmaceutyków na mikrobiom oraz zmian w społeczności drobnoustrojów zaangażowany w proces AD, zahamowanie wzrostu i rozwoju metanogenów odpowiedzialnych za produkcję metanu a także wzrost liczby genów lekooporności (ang. ARGs – antibiotic resistance genes) w pofermencie, a co się z tym wiąże szerzenie zjawiska antybiotykooporności (ang. AR – antibiotic resistance) w środowisku glebowym po nawożeniu gleby pofermentem.

Przedstawiona przez doktorantkę rozprawa doktorska obejmuje część literaturową w formie wstępu, przedstawia cele pracy, część doświadczalną, składającą się z trzech etapów badań laboratoryjnych oraz część obejmującą podsumowanie pracy i wnioski. Część literaturowa obejmuje opis zagadnień ujętych w części eksperymentalnej. Została ona napisana poprawnie zarówno pod względem merytorycznym, jak też stylistycznym w zakresie niezbędnym do poprawnego zrozumienia i interpretacji wyników zawartych w części doświadczalnej pracy. Pani mgr Izabela Wolak opisała prawdopodobne przyczyny narastającej antybiotykooporności oraz znaczenie tego fenomenu w procesie fermentacji metanowej,

nakreśliła problem nadużywania antybiotyków w hodowli zwierząt i rolnictwie, przedstawiła interesujące dane liczbowe oraz możliwe implikacje środowiskowe związane z nadmiernym stosowaniem farmaceutyków w przemysłowej hodowli i rolnictwie, które przenikać mogą do substratów AD oraz pofermentu, a następnie wraz z pofermentem do gleb i wód gruntowych pól uprawnych. Kolejny etap części literaturowej doktorantka poświęciła charakterystyce procesu AD oraz jego znaczeniu w kontekście rozprzestrzeniania w środowisku pozostałości antybiotyków oraz genów antybiotykooporności. Następnie, Pani mgr Izabela Wolak opisała istotę rodzaju substratu poddawanego procesowi AD w kontekście występowania pozostałości środków przeciwdrobnoustrojowych oaz częstości występowania ARGs, a także przedstawiła wpływ farmaceutyków na efektywność procesu AD.

Wyniki swoich badań doktorantka przedstawiła w trzech zasadniczych etapach części doświadczalnej. W pierwszym etapie eksperymentu prowadzonego w układzie technologicznym w warunkach laboratoryjnych doktorantka zbadała indywidualny wpływ ośmiu środków przeciwdrobnoustrojowych należących do 5 różnych klas na wydajność produkcji biogazu w procesie AD gnojowicy bydlęcej. Zbadała także mikrobiom zaangażowany w proces AD, obecność i liczbę genów swoistych dla *Archaea* oraz liczebność genów oporności na antybiotyki w pofermencie pochodzącym z substratu eksponowanego na wybrane środki przeciwdrobnoustrojowe.

W II etapie eksperymentu prowadzonego w bioreaktorach beztlenowych układu technologicznego na skalę laboratoryjną Pani mgr Izabela Wolak analizowała długoterminowy, synergistyczny efekt środków przeciwdrobnoustrojowych na fermentację metanową gnojowicy bydlęcej. Przy wykorzystaniu analiz metagenomicznych i bioinformatycznych doktorantka zbadała rozpowszechnienie ARGs i zmiany w bioróżnorodności drobnoustrojów w pofermencie gnojowicy bydlęcej, którą to gnojowicę bydlęcą jako wsad bioreaktora eksponowano na mieszaninę leków wybranych na podstawie wyników uzyskanych w ramach pierwszego etapu. W prowadzonym eksperymencie doktorantka analizowała efektywność produkcji metanu, natomiast przy wykorzystaniu analiz metagenomicznych zbadała również mikrobiom zaangażowany w proces fermentacji metanowej i zachodzące pod wpływem środków przeciwdrobnoustrojowych zmiany w społeczności drobnoustrojów prowadzących ten proces.

W III etapie eksperymentu prowadzonego w warunkach in vivo w działających na skalę przemysłową biogazowniach rolniczych, doktorantka badała poferment na bazie różnorodnych substratów tj. osadu ściekowego, gnojowicy bydlęcej oraz substratów roślinnych, pod kątem

obecności wybranych 13 antybiotyków należących do różnych klas. Co więcej, w próbkach pofermentu pani mgr Izabela Wolak badała także obecność genów niosących lekooporność na betalaktamy, tetracykliny, sulfonamidy, fluorochinolony i grupę leków MLS. W tym etapie doktorantka badała także obecność i liczebność genów integrazy klasy 1 oraz 2.

Uzyskane przez doktorantkę wyniki stanowią bogate źródło informacji dotyczących podejmowanych problemów. Na szczególną uwagę zasługują zaś wyniki analiz dotyczących potencjalnych implikacji środowiskowych podczas nawożenia pól uprawnych pofermentem i możliwość transmisji genów lekooporności tzw. „od zwierzęcia do pola" a stamtąd wraz z produktami rolnymi na talerz konsumenta i kolejno do łańcucha pokarmowego. Doktorantka określiła potencjalne zagrożenia, na które codziennie narażone są osoby pracujące w biogazowniach oraz potencjalni konsumenci produktów rolno-spożywczych, jak również podkreśliła znaczenie tego zjawiska w kontekście rosnącej antybiotykooporności wśród mikroorganizmów środowiskowych. W ocenie pracy, na szczególne wyróżnienie zasługuje bardzo duża samodzielność doktorantki nie tylko w realizacji badań, ale także w ich planowaniu oraz poszukiwaniu bieżących informacji naukowych.

W podsumowaniu mogę stwierdzić, że rozprawa doktorska Pani mgr Izabeli Wolak została napisana przejrzyście, a wyniki badań zostały przedstawione w sposób syntetyczny. Rozprawa ta stanowi bardzo interesujący wkład w badania dotyczące wpływu wybranych leków przeciwdrobnoustrojowych na produkcję biogazu, rozpowszechnienie genów lekooporności oraz mikrobiom zaangażowany w proces fermentacji metanowej. Doktorantka wykazała się umiejętnością planowania i prowadzenia pracy badawczej na wysokim poziomie, właściwego doboru technik badawczych i wyciągania rzetelnych wniosków na podstawie uzyskanych wyników badań.

Pod względem formalnym praca spełnia wymogi stawiane dysertacji doktorskiej i potwierdza celowość oraz zasadność prowadzonych prac eksperymentalnych. Praca Pani mgr Izabeli Wolak stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a Doktorantka wykazała się wiedzą teoretyczną i praktyczną w zakresie dyscypliny biologia oraz umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Wnoszę, zatem do Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Izabeli Wolak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.