

prof. dr hab. Adam Waśko  
Kierownik Katedry Biotechnologii,  
Mikrobiologii i Żywienia Człowieka  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
ul. Skromna 8, 20 -704 Lublin  
e-mail: adam.wasko@up.lublin.pl

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej pt.: „Use of natural extracts from *Lamium album* in the biological protection of cereals against *Fusarium* pathogens.”

wykonanej przez mgr **Pascaline Aimee Uwineza** w Katedrze Chemii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

pod kierunkiem **prof. dr hab. Agnieszki Waśkiewicz**

Podstawę formalną realizacji recenzji stanowi Uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu Nr 3/IV/2024 podpisana przez Panią przewodniczącą, prof. UPP dr hab. Dorotę Cais-Sokolińską (z dnia 28.11.2024) oraz rozprawa doktorska mgr Pascaline Aimee Uwineza.

Podstawę prawną stanowi art. 190 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (DZ.U. z 2023 r. poz. 742 ze zm.).

### Ocena formalna pracy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pt.: „Use of natural extracts from *Lamium album* in the biological protection of cereals against *Fusarium* pathogens.” stanowi spójny tematycznie cykl pięciu publikacji, w tym czterech oryginalnych prac twórczych i jednej pracy przeglądowej, opublikowanych w latach 2020-2024 w recenzowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym posiadających indeks wpływu IF i znajdujących się w części A wykazu czasopism Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN). Są to następujące pozycje:

1. **Uwineza, P.A.; and Waśkiewicz, A.** 2020. Recent Advances in



- Supercritical Fluid Extraction of Natural Bioactive Compounds from Natural Plant Materials. *Molecules* 25, 3847. <https://doi.org/10.3390/molecules25173847>.
2. **Uwineza, P.A.**; Gramza-Michałowska, A.; Bryła, M.; and Waśkiewicz, A. 2021. Antioxidant Activity and Bioactive Compounds of *Lamium album* Flower Extracts Obtained by Supercritical Fluid Extraction. *Appl. Sci.* 11, 7419. <https://doi.org/10.3390/app11167419>.
  3. **Uwineza, P. A.**; Urbaniak, M.; Stępień, Ł.; Gramza-Michałowska, A. and Waśkiewicz, A. 2023. *Lamium album* Flower Extracts: A Novel Approach for Controlling *Fusarium* Growth and Mycotoxin Biosynthesis. *Toxins*, 15(11), 651. <https://doi.org/10.3390/toxins15110651>.
  4. **Uwineza, P. A.**; Urbaniak, M.; Stępień, Ł.; Gramza-Michałowska, A. and Waśkiewicz, A. 2024. Efficacy of *Lamium Album* as a Natural Fungicide: Impact on Seed Germination, Ergosterol, and Mycotoxins in *Fusarium culmorum*-Infected Wheat Seedlings. *Front. Microbiol.* 5, 1363204. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1363204>.
  5. **Uwineza, P.A.**; Kwiatkowska, M.; Gwiazdowski, R.; Stępień, Ł.; Bryła, M.; Waśkiewicz, A. 2024. Field Assessment of *Lamium album* in Reducing Mycotoxin Biosynthesis in Winter Wheat Infected by *Fusarium culmorum*. *Agriculture*, 14, 647. <https://doi.org/10.3390/agriculture14050647>.

Suma punktów MEiN za wymienione publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, według komunikatu MEiN obowiązującego w roku wydania prac wynosi 540, a ich sumaryczny Impact Factor według listy Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 17,9. We wszystkich pracach tworzących cykl Doktorantka jest pierwszym autorem publikacji, jak również Pani mgr Uwineza pełniła rolę autora korespondencyjnego.

Przesłana do recenzji dysertacja składa się z 5 rozdziałów, zawierających oprócz kopii opublikowanych prac 46 stronicowy maszynopis. Układ pracy jest typowy dla opracowań o charakterze eksperymentalnym. Obejmuje część teoretyczną zawierającą: **Streszczenie pracy** w języku polskim i angielskim, **Wstęp**, będący uzasadnieniem



wyboru tematu pracy, w którym zawarto podstawy naukowe i przedstawiona w ramach rozprawy tematyka badawcza, **Hipoteza i cel pracy**, a także **Metody badawcze**. Następnie Autorka przedstawiła **Najważniejsze wyniki z dyskusją**, rozdział ten zawiera wybrane wyniki i ich dyskusję pochodzące ze wszystkich prac eksperymentalnych. **Podsumowanie i wnioski** oraz **Bibliografię** obejmującą 108 pozycji, a także **Oświadczenia współautorów** o udziale w opracowaniu publikacji. Dysertacja uzupełniona jest o **Spis tabel i rysunków** oraz **Załączniki**. Z oświadczeń współautorów publikacji wynika, że Doktorantka brała udział w doborze właściwych metod do realizacji celu badań, wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu wyników i ich interpretacji, przygotowywaniu i redagowaniu manuskryptów. Należy podkreślić, że cała dysertacja za wyjątkiem streszczenia przygotowana została w języku angielskim.

Podsumowując stwierdzam, że pod względem formalnym w świetle aktualnych przepisów prawa praca spełnia wymogi stawiane pracy doktorskiej.

### Ocena wyboru tematu i zakresu pracy

Ekstrakty roślinne są źródłem cennych składników, które mogą być wykorzystane w wielu gałęziach przemysłu. Związki bioaktywne izolowane z surowców pochodzenia naturalnego wykazują, oprócz właściwości leczniczych, również potencjał do wspomagania wzrostu i rozwoju roślin, chroniąc je przed stresem biotycznym i abiotycznym. Zainteresowanie ekstraktami roślinnymi nieustannie wzrasta wraz z rozwojem nowoczesnego rolnictwa, dla którego coraz ważniejsza jest efektywność, niskie koszty, ale przede wszystkim ochrona środowiska. W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono preparatom powstałym na bazie naturalnych substancji i możliwości ich zastosowania w uprawie roślin. Dlatego też poszukuje się surowców, których ekstrakty mogą pełnić funkcję biostymulatorów oraz środków ochrony roślin i mogą być wykorzystane jako komponenty „naturalnych” nawozów.

Polska jest krajem bogatym w rośliny zielne. Istotne wydaje się zatem badanie roślin występujących w Polsce, często niedocenionych i traktowanych jako „chwasty”, oraz poszukiwanie w nich związków bioaktywnych, mogących



być ważnymi komponentami naturalnych środków ochrony roślin. Z tego powodu Recenzent docenia, że Doktorantka w swojej dysertacji skupiła się na powszechnie występującym w Polsce gatunku jakim jest jasnota biała *Lamium album*.

Z drugiej strony, ogromny problem dla bezpieczeństwa żywności stanowią zagrożenia mikrobiologiczne, w tym obecność chorobotwórczych wirusów, bakterii czy grzybów oraz ich toksycznych metabolitów. Do czynników w znacznym stopniu obniżających jakość żywności i pasz, a zarazem stanowiących poważne zagrożenie bezpieczeństwa żywności należą grzyby strzępkowe i ich toksyczne metabolity tzw. mikotoksyny ze względu na powszechność występowania i szkodliwość. Do najczęściej izolowanych patogenów z ważnych roślin rolniczych należą grzyby z rodzaju *Fusarium*. Przez swoją wysoką patogeniczność i toksynotwórczość są przyczyną ogromnych strat gospodarczych. Pani mgr P. Uwinenza w swojej dysertacji w sposób bardzo interesujący z punktu widzenia naukowego, ale również praktycznego połączyła oba wątki tworząc spójną rozprawę doktorską.

Oceniana dysertacja wpisuje się w obszar badań, z zakresu szybko rozwijającego się zrównoważonego rolnictwa oraz bezpieczeństwa mikrobiologicznego w przemyśle spożywczym. Problem ten jest umiejscowiony w naukach rolniczych, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia i może być podstawą opracowania dysertacji na stopień naukowy doktora.

### **Merytoryczna ocena pracy**

Tytuł rozprawy jest zgodny z jej treścią.

Dysertacja zawiera oświadczenia Autorki, Promotora oraz Współautorów na temat samodzielności napisania prac dodatkowo zamieszczono informację na temat finansowania badań wykonanych w trakcie realizacji rozprawy doktorskiej (NCN, OPUS 16, UMO-2018/31/B/NZ9/03485). Z zamieszczonych oświadczeń wynika, że indywidualny wkład Doktorantki w powstanie każdej z nich, mieścił się w przedziale 60-80%. Mgr Uwinenza brała udział w doborze właściwych metod do realizacji celu badań, wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu wyników ich interpretacji, przygotowywaniu i redagowaniu manuskryptów. W dalszej części dysertacji Doktorantka



zawarła wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, uwzględniając punkty wg listy MEiN oraz sumaryczny Impact Factor wg listy JCR. Doktorantka zamieściła również Wykaz skrótów, który uważam za bardzo potrzebny i dobrze że ten element pracy został uwzględniony. Kolejne części dysertacji to streszczenie w języku polskim i angielskim, które obejmują krótkie wprowadzenie, omówienie celu pracy i poszczególnych jej etapów oraz charakterystykę najważniejszych wyników.

W rozdziale pierwszym zatytułowanym Wstęp Autorka dokonała przeglądu aktualnej literatury przedmiotu związanej z problematyką podjętą w pracy. Doktorantka opisała i scharakteryzowała dwa gatunki grzybów (*Fusarium culmorum* i *F. proliferatum*) na których pracowała. Na uwagę zasługuje fakt, że Doktorantka potraktowała tę część pracy holistycznie nie ograniczając się jedynie do charakterystyki obu gatunków grzybów, ale uwzględniając również kontekst związany z aspektem ekonomicznych strat wywoływanych przez te patogeny. W tej części dysertacji Pani Uwinenza opisała również w sposób precyzyjny możliwość wykorzystania różnych ekstraktów roślinnych jako alternatywnych metod stosowanych w ochronie ważnych rolniczo roślin. Wiedza na temat grzybów z rodzaju *Fusarium* oraz ekstraktów roślinnych stosowanych jako alternatywa dla fungicydów podawana jest w układzie ilościowym i jakościowym. Rozdział ten zakończony jest przejrzystym diagramem obrazującym metodologię badań zastosowanych w ocenianej dysertacji. Podsumowując można stwierdzić, że dokonany przegląd literatury świadczy o przemyślanym podejściu Autorki do podjętej tematyki i uzasadnia wybór tematu pracy.

W rozdziale drugim dysertacji Autorka w sposób prawidłowy stawia główny cel badawczy uzupełniony o pięć celi szczegółowych. Można stwierdzić, że tak sformułowane cele badawcze spełniają wymagania stawiane pracom doktorskim przez RDN a związanych z uzupełnieniem luki w wiedzy związanej z tematem dysertacji. Doktorantka przedstawiła również wybrany do rozwiązania problem naukowy w formie jasno opisanych 4 hipotez badawczych. W ocenie Recenzenta hipotezy te są prawidłowo zbudowane, jednoznaczne i zostały w dalszej części pracy sprawdzone przy pomocy odpowiednio dobranych metod.

Rozdział trzeci pracy stanowi opis Metod badawczych wykorzystanych przez



Doktorantkę w zaprezentowanych publikacjach.

**Uwaga**, jaka nasunęła mi się w trakcie zapoznawania się z informacjami zawartymi w powyższym rozdziale:

1. W rozdziale tym Autorka precyzyjnie odwołuje się do oryginalnych metodyk opracowanych przez innych autorów, a wykorzystanych w swoich pracach lub opisuje oryginalne metodyki zastosowane przez siebie jak np. ekstrakcja nadkrytyczna. Nie zrobiono tego w przypadku metodyki profilowania metabolicznego ekstraktów czy był to zabieg celowy czy też przeoczenie ?

W rozdziale czwartym, mgr Uwinenza przedstawiła wybrane wyniki zawarte w poszczególnych publikacjach. Ogólnie wszystkie z zaprezentowanych wyników stanowiących efekty eksperymentów pochodzących z cyklu powiązanych tematycznie publikacji to bardzo dobrze przygotowane i zinterpretowane dane wpisujące się w dyscyplinę nauk jaką jest technologia żywności i żywienia. Już pierwsza praca cyklu (P1) stanowi niezwykle wartościowy przykład pracy przeglądowej opisującej proces ekstrakcji płynem nadkrytycznym (SFE) cennych związków pochodzących z różnych gatunków roślin. Należy podkreślić, że to podejście oparte o dobrze opisane podstawy naukowe oraz kompletny przegląd literatury przedmiotu zostało wykorzystane do dalszych prac w cyklu tematycznym i dało naukową podstawę do przeprowadzenia kolejnych eksperymentów zebranych w tych publikacjach. W publikacji 2 Doktorantka przeprowadziła proces optymalizacji (jeden czynnik w czasie, OFAT) ekstrakcji płynem nadkrytycznym związków bioaktywnych z kwiatów jasnoty białej. W jej wyniku określono optymalne parametry procesu ekstrakcji: temperaturę na poziomie 50° C, dodatek metanolu jako współrozpuszczalnika oraz ciśnienie na poziomie 250 barów. Tak pozyskane ekstrakty poddano ocenie właściwości przeciwutleniających stosując testy DPPH, ABTS i FRAP w wyniku których potwierdzono, że powyższe parametry procesu ekstrakcji zapewniają najefektywniejszą izolację związków fenolowych z kwiatów jasnoty białej. Bardzo wartościowymi wynikami tej pracy jest określenie profili związków fenolowych w badanych ekstraktach z użyciem systemu ultrasprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas oraz detektorem wyposażonym w matrycę fotodiodową. Ekstrakt uzyskany w optymalnych warunkach zawierał o ponad 20% więcej





związków fenolowych niż w pozostałych wariantach ze znacząco wyższym stężeniem takich związków jak: chryzyna, pinostrobin, mirycetyna i kwas trans-3-hydroksycynamonowy. W publikacji 3 mgr inż. P. Uwinenza wraz z współautorami stosując badania *in vitro* na dwóch fitopatogennych gatunkach *Fusarium* (*F. culmorum* i *F. proliferatum*) potwierdziła antygrzybicze właściwości ekstraktu z kwiatów jasnoty białej *Lamium album*. W tej samej pracy autorka wykazała, że badany ekstrakt nie tylko hamował wzrost grzybów ale również wpływał na metabolizm badanych gatunków znacząco redukując biosyntezę mykotoksyn z grupy trichotecenów oraz zaralelonów. Należy docenić analityczną stronę pracy, w której Doktorantka swobodnie posługuje się zaawansowanymi metodami analiz mikrobiologicznych oraz analizy instrumentalnej do oceny mykotoksyn i ergosterolu (UPLC/MS/MS i UPLC/PDA) W ocenie Recenzenta stanowi to komplementarne ujęcie tematyki badawczej, które należy w sposób szczególny docenić. Doktorantka w omawianej pracy uzupełnia lukę w wiedzy na temat możliwości zastosowania ekstraktów z *Lamium album*, jako biologicznych fungicydów. Informacje te po raz pierwszy pojawiają się w literaturze przedmiotu i stanowią istotną wartość naukową. Chociaż jako Recenzent nie czuję się uprawniony do oceny publikacji poddanych już uprzednio procesowi recenzji w czasopiśmie o wysokiej renomie, to czytając powyższą pracę nasunęło mi się pytanie dotyczące użytych gatunków z rodzaju *Fusarium*.

**Pytanie:** Proszę o wyjaśnienie użycia w badaniach gatunków *F. culmorum* i *F. proliferatum*, (izolat pochodzący z grochu) które to gatunki są statystycznie w warunkach polskich rzadziej izolowane ze zbóż niż na przykład *F. graminearum* czy też *F. poae* ?

Publikacja 4 jest pracą przeprowadzoną na modelu roślinnym mającą na celu, zbadanie wpływu ekstraktu z kwiatów jasnoty białej na kiełkowanie nasion parzenicy i wzrost siewek. W pracy tej mgr Uwinenza skupiła się na zbadaniu parametrów wzrostu siewek również tych zakażonych sztucznie badanymi gatunkami *Fusarium* w kontekście kumulacji mykotoksyn w korzeniach i liściach siewek pszenicy. W ocenie Recenzenta praca została zaplanowana w sposób skrupulatny, a techniki badawcze adekwatnie dobrano dla realizacji określonego celu i zakresu co pozwoliło na uzyskanie bardzo wartościowych wyników. Na szczególną uwagę i pochwałę pracy Doktorantki zasługuje bardzo pracochłonna analiza identyfikacji gatunków *Fusarium* spp. wykonana na modelu



roślinnym metodami molekularnymi.

Wyniki zawarte w ostatniej pracy eksperymentalnej cyklu (P5) wpisują się w ogólny schemat dysertacji i zostały uzyskane w badaniach *in vivo* na poletkach doświadczalnych na uprawach pszenicy ozimej. Wyniki prezentujące ten aspekt badań są analogiczne do tych pochodzących z pracy czwartej (P4) i jest to podejście zrozumiałe i logiczne w kontekście weryfikacji potencjału ekstraktu z kwiatów jasnoty białej jako potencjalnego naturalnego środka przeciwwgrzybiczego. Weryfikacja ta przebiegła pomyślnie i Doktorantka potwierdziła spadek stężeń takich mykotoksyn jak: deoksyniwalenol (DON) oraz mykotoksyn z grupy zaralelonów ( $\alpha$ -ZOL,  $\beta$ -ZOL i ZEN-14S) w uprawianych zbożach potwierdzając potencjał badanego ekstraktu jako naturalnego fungicydu.

Kolejną część pracy stanowi rozdział Podsumowanie oraz wnioski. W podsumowaniu badań Autorka przedstawiła najistotniejsze ustalenia wynikające z rezultatów pracy, podała również kierunki dalszych badań nie odniosła się jednak do tego gdzie i przez kogo wyniki mogą być wykorzystane. Doktorantka sformułowała 5 precyzyjnych i bardzo dobrze sformułowanych wniosków podsumowujących całokształt realizowanych w ramach rozprawy doktorskiej badań. Jednocześnie warto podkreślić, że przedstawione wnioski potwierdzają zarówno poznawczy charakter jak i rozwojowy potencjał przedstawionej do oceny dysertacji.

Bibliografia kończy ocenianą rozprawę doktorską zawiera 108 pozycji anglojęzycznych w większości pochodzących z ostatnich 10 lat. Bibliografia jest przygotowana bardzo starannie, z dużą troską o szczegóły. Wszystkie nazwy czasopism podane zostały według tego samego klucza. Nie znalazłem żadnych uchybień w tym rozdziale. Dysertacja zawiera jeszcze spis tabel i rysunków.

Zawarte w cyklu prace są już opublikowane i poddane recenzjom, ja również oceniam je bardzo wysoko. To stwierdzenie pozwala jednocześnie Recenzentowi poprosić Doktorantkę o rozważenie następujących zagadnień podczas dyskusji:

1. Bardzo proszę o wyjaśnienie faktu, że przy ekstrakcji metodami tradycyjnymi uzyskujemy niższą zawartość związków polifenolowych w porównaniu do ekstrakcji w płynach nadkrytycznych?
2. Nawiązując do metod stosowanych w optymalizacji procesu SFE proszę opisać





metodę RSM z wykorzystaniem modelu Box — Behnken?

3. Proszę podać mechanizmy działania związków polifenolowych na komórki grzybów z rodzaju *Fusarium*?

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, dowodząc możliwości wykorzystania ekstraktu z kwiatów jasnoty białej *Lamium album* jako naturalnego fungicydu. Sformułowane w rozprawie hipotezy badawcze zostały pozytywnie zweryfikowane. Praca poszerza stan wiedzy w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia. Dysertacja została przygotowana starannie, z dużą dbałością o stronę naukową, językową i edytorską.

### Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr **Pascaline Aimee Uwinenza**, pt. „**Use of natural extracts from *Lamium album* in the biological protection of cereals against *Fusarium* pathogens**” ma bardzo wysoką wartość naukową, a przedstawione przez mnie bardzo drobne i nieliczne uwagi, nie umniejszają jej merytorycznej wartości poznawczej oraz znaczenia podjętego problemu badawczego. Uważam, że oceniana dysertacja spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim zawartym w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r. poz. 742 ze zm). Doktorantka wykazała wysoką umiejętność prowadzenia badań naukowych, a także opracowania i interpretacji otrzymanych wyników w oparciu o aktualne piśmiennictwo z zakresu podjętej problematyki badawczej. Wniosuję zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani mgr Pascaline Aimee Uwinenza do publicznej obrony oraz dalszych etapów postępowania doktorskiego.



prof. dr hab. Adam Waśko  
Kierownik Katedry Biotechnologii,  
Mikrobiologii i Żywienia Człowieka  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
ul. Skromna 8, 20 -704 Lublin  
e-mail: [adam.wasko@up.lublin.pl](mailto:adam.wasko@up.lublin.pl)

Lublin, 01.07. 2025

**Uzasadnienie wniosku o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr Pascaline Aimee Uwinenza, pt. „Use of natural extracts from *Lamium album* in the biological protection of cereals against *Fusarium* pathogens”**

Recenzowana praca doktorska zasługuje na wyróżnienie ze względu na szeroki i interdyscyplinarny charakter przeprowadzonych badań. Pani mgr Pascaline Uwinenza po raz pierwszy otrzymała efektywnie działający ekstrakt z kwiatów jasnoty białej metodą SFE poddała go szeroko zakrojonym i dobrze zaprojektowanym badaniom chemicznym i mikrobiologicznym. Uzyskane wyniki zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo* pozwoliły określić nieznaną do tej pory aktywność antygrzybiczą w stosunku do grzybów z rodzaju *Fusarium*. Mają one praktyczne znaczenie w kontekście możliwości zastosowania opracowanego ekstraktu jako naturalnego fungicydu o małej fitotoksyczności w zrównoważonym rolnictwie. Przeprowadzone badania mają charakter nowatorski a aktywność ekstraktów z jasnoty białej w kontekście preparatów stosowanych w biokontroli zostały opisane po raz pierwszy w literaturze światowej. Wszystkie wyniki zostały opublikowane w sześciu recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

**Do najważniejszych osiągnięć przedstawionych w recenzowanej pracy należy zaliczyć:**

- Opracowanie metody ekstrakcji w płynach nadkrytycznych oraz charakterystyka chemiczna uzyskanych ekstraktów,
- Określenie efektywnych stężeń ekstraktu w kontekście zahamowania infekcji grzybowych w badaniach *in vitro* oraz badaniach polowych,



- Określenie wpływu ekstraktu uzyskanego z kwiatów *Lamium album* na kiełkowanie oraz wzrost przenicy – testy fitotoksyczności,
- Analizę zahamowania biosyntezy i kumulacji mykotoksyn w tkankach przenicy wytwarzanych przez fitopatogenne grzyby z rodzaju *Fusarium*.

#Wadko