POLITECHNIKA POZNAŃSKA

prof. dr hab. inż. Ewa Kaczorek
WYDZIAŁ TECHNOLOGII CHEMICZNEJ
ul. Berdychowo 4, 61-131 Poznań, tel.: +48 61 665 2601
e-mail: ewa.kaczorek@put.poznan.pl, www.fct.put.poznan.pl

Poznań, 12 listopada 2026 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. Ahmer'a Bin Hafeez'a
zatytułowanej
„Pharmacological potential of bee products microbiota"
(*Potencjał farmakologiczny mikrobioty produktów pszczelich)*
Podstawą formalną sporządzenia niniejszej recenzji jest pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Gdańskiej Pana dr hab. inż. Sebastiana Demkowicza, prof. PG
(pismo L. Dz. 226 WCh/Dz/2026)

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska została wykonana przez mgr. Ahmer'a Bin Hafeez'a na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, w Katedrze Technologii Leków i Biochemii pod kierunkiem dra hab. inż. Piotra Szwedy, prof. PG.

Współczesna medycyna i ochrona środowiska stoją przed istotnymi wyzwaniami związanymi z powszechnym stosowaniem farmaceutyków oraz ich niekontrolowanym przedostawaniem się do środowiska naturalnego. Jednocześnie rosnąca oporność drobnoustrojów na dostępne środki przeciwdrobnoustrojowe jest jednym z najistotniejszych wyzwań współczesnej medycyny i mikrobiologii, wskazując na konieczność poszukiwania nowych rozwiązań terapeutycznych. W tym kontekście szczególnego znaczenia nabierają badania nad produktami naturalnymi, w tym produktami pszczelimi oraz związaną z nimi mikrobiotą, które mogą stanowić cenne źródło nowych związków biologicznie aktywnych o potencjale przeciwdrobnoustrojowym. Szczególnie interesującym kierunkiem jest poznanie składu mikrobiologicznego produktów pszczelich oraz identyfikacja mikroorganizmów zdolnych do wytwarzania substancji o aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Analiza właściwości tych związków, poznanie mechanizmów ich działania oraz ocena potencjału w hamowaniu wzrostu drobnoustrojów, w tym szczepów lekoopornych, mogą przyczynić się do opracowania nowych strategii zapobiegania i zwalczania zakażeń. Tym samym badania podejmujące taką problematykę mają istotne znaczenie. Dlatego też w nurt tych badań doskonale wpisuje się tematyka rozprawy doktorskiej Pana mgr. Ahmer'a Bin Hafeez'a

dotycząca oceny potencjału farmakologicznego mikrobioty związanej z produktami pszczelimi, ze szczególnym uwzględnieniem jej właściwości probiotycznych, zdolności do produkcji metabolitów o aktywności przeciwdrobnoustrojowej oraz identyfikacja uwarunkowań genetycznych i struktury tych związków. Uważam, że podjęty przez Doktoranta temat badawczy jest bardzo ważny i przydatny nie tylko pod względem poznawczym, ale również aplikacyjnym.

Rozprawa doktorska została przygotowana w języku angielskim i stanowi spójny tematycznie cykl pięciu artykułów naukowych opublikowanych w takich czasopismach jak: *Applied Microbiology and Biotechnology, Probiotics and Antimicrobial Proteins, International Journal of Molecular Science, ACS Omega* i *Molecular Genetics and Genomics*. W czterech publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem, natomiast w jednej zajmuje drugą pozycję na liście autorów. W jednej z prac pełni również funkcję autora korespondencyjnego. Jego znaczący wkład w powstanie publikacji znajduje potwierdzenie w oświadczeniach współautorów. Szczegółowy zakres udziału Doktoranta w przygotowaniu poszczególnych publikacji został przedstawiony na stronach 47–49 rozprawy, w części zawierającej wykaz publikacji wchodzących w skład dysertacji, co umożliwia właściwą ocenę zakresu jego samodzielnego wkładu w realizację przedstawionych badań.

Prace wchodzące w skład dysertacji doktorskiej zostały poprzedzone streszczeniem w języku angielskim i polskim, wykazem skrótów i akronimów oraz 34 stronicowym wprowadzeniem w tematykę badawczą. Przegląd literatury ma uporządkowany i syntetyczny charakter oraz obejmuje dziewięć podrozdziałów poświęconych takim zagadnieniom jak: narastający problem oporności bakterii, odkrywanie antybiotyków, mechanizmy rozwoju oporności na antybiotyki, charakterystyka ogólna i znaczenie kliniczne patogenów ESKAPE, biologia pszczoły miodnej (*Apis mellifera*), mikroflora miodu i innych produktów pszczelich, funkcjonalna klasyfikacja peptydów przeciwdrobnoustrojowych i metabolitów wyspecjalizowanych u bakterii z rodzajów *Bacillus* i *Lactobacillus*, charakterystyka metabolitów wyspecjalizowanych pochodzenia rybosomalnego oraz nierybosomalnego. Potwierdza on bardzo dobre przygotowanie teoretyczne Pana mgr. Ahmer'a Bin Hafeez'a do prowadzenia badań eksperymentalnych. W dalszej części rozprawy Doktorant sformułował cel naukowy pracy, którym było określenie potencjału farmakologicznego mikrobioty związanej z produktami pszczelimi, ze szczególnym uwzględnieniem jej właściwości probiotycznych oraz zdolności do wytwarzania metabolitów o aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Osiągnięcie założonego celu wymagało przeprowadzenia wieloaspektowych badań

obejmujących ocenę potencjału probiotycznego wyizolowanych szczepów i ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej, optymalizację warunków hodowli, analizę genomową i bioinformatyczną wybranych izolatów, a także identyfikację strukturalną metabolitów wykazujących najsilniejsze działanie przeciwdrobnoustrojowe.

Następnie Doktorant zamieścił wykaz artykułów stanowiących podstawę dysertacji, a po nim kopie poszczególnych publikacji, z których każdą poprzedził 3–4 stronicowym wprowadzeniem zawierającym omówienie przeprowadzonych badań oraz prezentację najważniejszych uzyskanych wyników. Na stronie 72 przedstawił również wyniki badań własnych, które nie zostały dotychczas opublikowane. Kolejną część rozprawy stanowi przegląd kluczowych wyników badań zaprezentowanych w poszczególnych publikacjach oraz wynikających z nich wniosków. Rozprawę kończą podziękowania, wykaz osiągnięć naukowych Doktoranta, spis literatury oraz spisy rysunków i tabel.

Przedmiotem badań zaprezentowanych w **publikacji nr 1** była izolacja i charakterystyka bakterii występujących w polskim miodzie, pod kątem ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej oraz ocena ich potencjału biosyntetycznego z wykorzystaniem sekwencjonowania całego genomu i metod eksploracji genomów. Przebadano trzy próbki miodu wielokwiatowego pobrane z północnej Polski, uzyskując łącznie 132 izolaty bakteryjne. Spośród nich trzy szczepy wykazały najsilniejszą aktywność przeciwgronkowcową wobec referencyjnych szczepów *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 i ATCC 29213) i to one zostały wytypowane do szczegółowej analizy genomowej. W wyniku identyfikacji ustalono, że są to dwa szczepy z gatunku *Bacillus paralicheniformis* i jeden z gatunku *Bacillus subtilis*. Ponadto wykazano, na podstawie analiz genomowych, znaczny potencjał wyizolowanych szczepów do biosyntezy różnorodnych metabolitów przeciwdrobnoustrojowych, w tym lipopeptydów, syderoforów, peptydów syntetyzowanych rybosomalnie i modyfikowanych potranslacyjnie oraz małych peptydów przeciwdrobnoustrojowych. Połączenie badań fenotypowych z analizą genomową umożliwiło identyfikację klastrów genów związanych z biosyntezą tych metabolitów, wskazując na potencjał badanych szczepów do produkcji nowych związków, w tym bakteriocyn. Uzyskane wyniki wskazały również na dodatkowy potencjał tych szczepów w zakresie ich zastosowania w przemysłowych procesach biokatalitycznych oraz degradacji biomasy.

W **publikacji nr 2** badania związane były z izolacją szczepów bakterii z rodzaju *Bacillus* z pyłku kwiatowego i pierzgi. Dokonano oceny ich potencjału probiotycznego na podstawie analiz fizjologicznych, biochemicznych i genomowych. Wyizolowano dziesięć szczepów

bakterii z rodzaju *Bacillus,* w tym siedem z pyłku pszczelego oraz trzy z pierzgi. Izolaty bakterii *Bacillus* wykazywały działanie hamujące wobec niektórych patogenów bakteryjnych, a najsilniejszy efekt hamujący zaobserwowano wobec gronkowców (*Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*) oraz *Pseudomonas aeruginosa*. Przeprowadzenie kompleksowych badań obejmujących poza aktywnością przeciwdrobnoustrojową, także przeżywalność w warunkach przewodu pokarmowego, właściwości związane z adhezją, ocenę bezpieczeństwa, asymilacji cholesterolu oraz potencjału metabolicznego, pozwoliło na wybranie trzech izolatów bakteryjnych jako najbardziej obiecujących kandydatów na szczepy o potencjale probiotycznym. Przeprowadzone sekwencjonowanie całego genomu oraz analiza filogenomiczna pozwoliła na określenie ich przynależności gatunkowej (jeden szczep zidentyfikowano jako *Bacillus velezensis,* a dwa jako szczepy z gatunku *Bacillus subtilis*). Ponadto badania genomowe wykazały obecność genów odpowiedzialnych za wytwarzanie związków przeciwdrobnoustrojowych, takich jak bakteriocyny oraz inne metabolity wtórne.

W **publikacji nr 3** Doktorant skupił się na przeprowadzeniu szczegółowej analizy genomowej wybranych wcześniej izolatów bakterii z rodzaju *Bacillus* w celu oceny ich potencjału probiotycznego, profilu bezpieczeństwa, wrażliwości na antybiotyki oraz obecności genów zaangażowanych w korzystne procesy metaboliczne. Analizy genomowe wykazały, że izolaty bakterii z rodzaju *Bacillus* pozyskane z pyłku kwiatowego i pierzgi posiadają geny związane z tolerancją stresu, adhezją, metabolizmem węglowodanów, syntezą witamin i produkcją związków przeciwdrobnoustrojowych. Nie stwierdzono przy tym istotnych genów wirulencji ani czynników patogenności, co czyni je obiecującymi kandydatami do zastosowań jako szczepy probiotyczne, charakteryzujące się korzystnym profilem bezpieczeństwa.

Natomiast w **publikacji nr 4** skupiono się na analizie i przewidywaniu funkcji biologicznych oraz charakterystyce strukturalnej białek hipotetycznych zidentyfikowanych w genomach szczepów *Bacillus paralicheniformis* i *Bacillus subtilis,* które zostały wyizolowane z miodu. Wytypowano 56 białek hipotetycznych, które poddano analizom bioinformatycznym w celu przewidzenia ich funkcji biologicznych. Uzyskane wyniki wskazały na ich potencjalny udział w kluczowych procesach komórkowych, takich jak sporulacja, tworzenie biofilmu, regulacja metabolizmu, ruchliwość oraz replikacja DNA. Poszerzają one wiedzę na temat biologii bakterii z rodzaju *Bacillus*, jednak wymagają dalszej szczegółowej weryfikacji eksperymentalnej.

Z kolei w **publikacji nr 5** skupiono się nad oceną potencjału przeciwdrobnoustrojowego dwóch szczepów z gatunku *Bacillus subtilis* (Miodo8 i Miodo10), które zostały wyizolowane

z wielokwiatowego miodu imbirowego. W tym celu przeprowadzono kompleksowe badania obejmujące między innymi analizy fenotypowe, optymalizację warunków fermentacji, sekwencjonowanie genomów, czy analizę *in silico* ukierunkowaną na identyfikację peptydów przeciwdrobnoustrojowych. Zastosowane podejście pozwoliło na wieloaspektową ocenę potencjału bioaktywnego badanych szczepów. Przeprowadzone badania pozwoliły wykazać, że miód imbirowy może stanowić źródło bioaktywnych szczepów *Bacillus subtilis* wykazujących obiecujące właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Uzyskaną aktywność biologiczną powiązano z obecnością klastrów genów biosyntetycznych, potencjałem sekrecyjnym oraz występowaniem sekwencji kodujących potencjalne peptydy przeciwdrobnoustrojowe. Analizy genomowe i bioinformatyczne poszerzyły wiedzę na temat potencjału biosyntetycznego badanych szczepów, wskazując jednocześnie na konieczność dalszej weryfikacji przewidywanych metabolitów i peptydów. Wykrycie aktywności hemolitycznej oraz markerów oporności na antybiotyki wskazuje ponadto na potrzebę pogłębionej oceny bezpieczeństwa badanych szczepów przed rozważeniem ich potencjalnego zastosowania terapeutycznego lub biotechnologicznego.

Podjęta w rozprawie problematyka badawcza jest aktualna i istotna z naukowego punktu widzenia. Realizacja celu rozprawy doktorskiej wymagała przeprowadzenia wieloetapowych prac eksperymentalnych, które zostały starannie zaplanowane i zrealizowane. Zastosowanie zróżnicowanych metod badawczych i analitycznych umożliwiło kompleksową weryfikację przyjętych założeń. W toku realizacji badań Doktorant wykazał się dużą samodzielnością w planowaniu i prowadzeniu eksperymentów, umiejętnością właściwego doboru metod badawczych oraz trafną interpretacją uzyskanych wyników. Uważam, że założony cel naukowy został w pełni osiągnięty, a recenzowana rozprawa doktorska zawiera oryginalny i wartościowy materiał badawczy, stanowiący istotny wkład w poszerzenie aktualnego stanu wiedzy na temat potencjału biologicznego i farmakologicznego mikrobioty związanej z produktami pszczelimi. Przeprowadzone badania dostarczają nowych informacji dotyczących różnorodności mikrobiologicznej tych produktów, właściwości biologicznych wyizolowanych szczepów oraz ich zdolności do wytwarzania związków o potencjalnej aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Na szczególną uwagę zasługuje wykorzystanie nowoczesnych metod analizy genomowej i bioinformatycznej, które umożliwiły pogłębioną charakterystykę badanych mikroorganizmów oraz identyfikację ich potencjału biosyntetycznego. Uzyskane wyniki nie tylko poszerzają wiedzę na temat mikrobioty produktów pszczelich, ale również wskazują na możliwość jej przyszłego wykorzystania jako źródła nowych substancji bioaktywnych o potencjalnym

znaczeniu farmakologicznym i biotechnologicznym. Tym samym rozprawa wnosi istotny wkład w rozwój badań nad mikroorganizmami zasiedlającymi produkty pszczele i ich potencjalnymi zastosowaniami praktycznymi.
Jakkolwiek z obowiązku recenzenta pozwolę sobie na wskazanie kilku kwestii do dyskusji.

1. Jakie czynniki środowiskowe i warunki hodowli mogą wpływać na ekspresję klastrów genów odpowiedzialnych za biosyntezę metabolitów wtórnych u bakterii z rodzaju *Bacillus*?
2. Na podstawie analizy genomowej zidentyfikowano liczne klastry genów biosyntezy potencjalnych związków przeciwdrobnoustrojowych, jakie podejście eksperymentalne należałoby zastosować, aby potwierdzić, że zidentyfikowane klastry są rzeczywiście aktywne, a kodowane przez nie związki są produkowane przez badane szczepy i wykazują aktywność przeciwdrobnoustrojową?
3. Jakie dodatkowe badania należałoby przeprowadzić, aby kompleksowo potwierdzić bezpieczeństwo badanych szczepów w kontekście ich potencjalnego zastosowania biotechnologicznego?
4. W genomach badanych szczepów z rodzaju *Bacillus* zidentyfikowano geny związane z tolerancją na stres środowiskowy, adhezją oraz przeżywaniem w trudnych warunkach przewodu pokarmowego. Jakie mechanizmy na poziomie molekularnym warunkują zdolność bakterii do przetrwania w przewodzie pokarmowym oraz jakie mają znaczenie dla ich właściwości probiotycznych?

Przedstawione powyżej pytania i uwagi mają charakter dyskusyjny i nie wpływają na moją pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej.
Oceniając całokształt dorobku naukowego Doktoranta, należy podkreślić, że jest on współautorem pięciu publikacji indeksowanych na liście filadelfijskiej, z których wszystkie są tematycznie związane z problematyką rozprawy doktorskiej. Jest to bardzo dobry wynik, świadczący o aktywności naukowej i zaangażowaniu Doktoranta, szczególnie na obecnym etapie jego kariery naukowej. Doktorant brał również czynny udział w trzech konferencjach naukowych, podczas których prezentował wyniki swoich badań w formie wystąpień ustnych oraz prezentacji posterowych. Ponadto jest on beneficjentem stypendiów i grantów, między innymi otrzymał minigranty przeznaczone dla doktorantów i młodych pracowników naukowych, a także międzynarodowe stypendia doktoranckie Francium i Polonium. Otrzymał także stypendium Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (NAWA) dla najlepszych

doktorantów realizujących projekty we współpracy międzynarodowe. Na podkreślenie zasługuje również odbycie przez Doktoranta trzech staży naukowych: w Katedrze Chemii, na Wydziale Nauk Przyrodniczych, Matematycznych i Inżynieryjnych, King's College London, Wielka Brytania, pod opieką naukową prof. Sarah M. Barry; w Katedrze Biotechnologii i Biomedycyny, na Duńskim Uniwersytecie Technicznym (Technical University of Denmark), pod opieką naukową: prof. Ling Ding oraz w Katedrze Biochemii i Biotechnologii Uniwersytetu Tesalii (University of Thessaly), Grecja, pod opieką naukową prof. Grigorios Amoutzias. Warto także dodać, że rozprawa doktorska została wykonana w ramach projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki OPUS UMO-2021/41/B/NZ9/03929 pt. „Potencjał biotechnologiczny i farmakologiczny mikrobioty produktów pszczelich", którego kierownikiem był promotor dr hab. inż. Piotra Szweda, prof. PG.

Podsumowując, na podstawie oceny pracy doktorskiej przedstawionej w formie cyklu monotematycznych, oryginalnych prac nt. **„Pharmacological potential of bee products microbiota" (*Potencjał farmakologiczny mikrobioty produktów pszczelich*)** autorstwa Pana mgr. Ahmer'a Bin Hafeez'a oraz zawartej w dysertacji aktywności naukowej jednoznacznie stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr. Ahmer'a Bin Hafeez'a w pełni spełnia wymagania określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668), stawiane rozprawom doktorskim. **W związku z tym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Gdańskiej o dopuszczenie mgr. Ahmer'a Bin Hafeez'a do dalszych etapów postępowania doktorskiego.**

