

## Recenzja

pracy doktorskiej p. mgr Aleksandry Izdebskiej

pt. „Wpływ roślin oraz zawartych w nich związków chemicznych na wołka zbożowego *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera, Dryophthoridae).

### Wstęp

W ostatnich latach coraz wyraźniej uświadamiamy sobie, że świat, który nas otacza zmienia się w coraz szybszym tempie na niekorzyść, głównie za sprawą działalności człowieka. Gwałtowny spadek bioróżnorodności roślinnej i zwierzęcej na różnych poziomach troficznych, spowodowany jest zarówno utratą siedlisk, zmianami klimatycznymi, jak i skażeniem środowiska wynikającym z rozwoju przemysłu oraz produkcji rolniczej podążającej za coraz szybszym wzrostem populacji ludzkiej. W rolnictwie towarowym, stosowanie pestycydów i innych agrochemikaliów osiągnęło już gigantyczne rozmiary. Istnieje więc nagląca potrzeba poszukiwania nowych, alternatywnych metod produkcji bezpiecznych dla środowiska preparatów, ograniczających stosowanie tych najbardziej niebezpiecznych środków.

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska wpisuje się wyraźnie w tematykę badań dotyczących poszukiwania nowych, a zarazem bezpiecznych dla zdrowia i dla środowiska substancji o działaniu owadobójczym i odstraszającym. Takie poszukiwania trwają od pewnego czasu wszędzie tam, gdzie uświadomiono sobie zagrożenia jakie niesie stosowanie syntetycznych, chemicznych pestycydów, zwanych także środkami ochrony roślin. Szkody jak i straty z powodu występowania nadmiernej liczebności organizmów roślinożernych (w rolnictwie agrofagów lub tzw. szkodników) mają miejsce zarówno w polu jak i w okresie po zbiorczym w trakcie transportu, przechowywania, dystrybucji, a także nawet na półkach sklepowych. Wyceny dokonanych tam szkód i poniesionych strat dobitnie świadczą, iż utrata plonu wynikająca z działalności szkodników jest często znacznie wyższa w trakcie przechowywania, aniżeli na polu, a sięga 30% i więcej. Obserwuje się to zwłaszcza w krajach położonych w strefach o klimacie cieplejszym od naszego. Problem ten jednak dotyka także w istotnym stopniu produktów rolnych oraz żywności przechowywanej w spichrzach i magazynach w strefach klimatu umiarkowanego. Lista gatunków owadów i roztoczy oraz innych zwierząt, żerujących i rozwijających się w przechowywanych produktach jest bardzo długa, a w naszym kraju obejmuje ponad sto gatunków, spośród których większość to organizmy kosmopolityczne, rozwleczone po całym świecie wraz z transportowanymi artykułami rolnymi oraz produktami ich przetwarzania. Problem z ich występowaniem i szkodliwością zauważono już w starożytności, a pierwsze metody zwalczania szkodników w tamtym okresie dotyczyły m.in. owadów występujących w przechowywanych produktach.

Autorka pracy wybrała do swoich badań właśnie taki polifagiczny gatunek, którego obecność i szkodliwa działalność notowana jest w przechowalniach i magazynach od setek lat na całym świecie. Wołek zbożowy należy do szkodników

pierwotnych atakujących nieuszkodzone jeszcze ziarniaki zbóż. Gatunek ten spotykany jest także często w polskich spichrzach i magazynach zbożowych, gdzie dokonuje zarówno bezpośrednich jak i pośrednich szkód. Z tego też powodu wybranie tego, gospodarczo ważnego gatunku chrząszcza do niniejszych badań uważam za trafne i jak najbardziej celowe.

W badaniach prowadzonych na całym świecie, coraz więcej miejsca zajmują rośliny zawierające naturalne związki o potencjalnym działaniu owadobójczym. Ich liczba nie jest znana, ale wachlarz roślin badanych na różne sposoby, równolegle w wielu krajach jest bardzo szeroki, czemu nie należy się dziwić zważywszy, iż z każdą rośliną związany jest mniejszy lub większy zespół roślinożernych zwierząt, przeciwko którym rośliny wytworzyły w ciągu tysięcy lat ewolucji różne substancje obronne (tzw. metabolity wtórne) o działaniu odstrasżającym lub obronnym. Wiele takich substancji, których przykładem może być rotenon, pyretrum, nikotyna czy azadirachtyna jest znanych i stosowanych od dawna. Coraz częściej dowiadujemy się też o możliwym do praktycznego wykorzystania działaniu kolejnych, zawartych w nich związkach. W ogrodnictwie amatorskim z kolei, w tzw. „programach ochrony roślin” dotyczących zwalczania owadów i roztoczy na działkach i w przydomowych ogrodach, zaleca się stosowanie wyciągów, wywarów, naparów itp. otrzymywanych na bazie wielu gatunków roślin tak uprawnych jak i dziko rosnących. Stosowanie tego rodzaju preparatów pociąga za sobą pewne niebezpieczeństwo. Preparaty roślinne wytwarzane często domowymi sposobami i stosowane w różnoraki sposób, otrzymywane z roślin zarówno uprawnych jak i dzikich, zawierają roślinne substancje obronne w koncentracjach w jakich nigdzie w przyrodzie nie występują. Ich wprowadzanie do praktyki rolniczej powinno więc być także poprzedzone szerokimi badaniami dotyczącymi ewentualnych zagrożeń dla ludzi i dla środowiska.

Wybór roślin dokonany przez Autorkę pracy uważam za bardzo trafny. Kminek, koper włoski, czarnuszka i mięta polej, to rośliny znane i od dawna wykorzystywane zarówno w tradycyjnej jak i we współczesnej medycynie, o właściwościach m.in. przeciwbakteryjnych czy o działaniu antyutleniającym. Jednak o ich działaniu w odniesieniu do owadów i roztoczy wiadomo bardzo niewiele, chociaż badania na ten temat prowadzone są w wielu ośrodkach zagranicznych. W Polsce badania dotyczące tych zagadnień nie były dotąd szeroko prowadzone i należy podkreślić, że zakład, w którym wykonywana jest niniejsza praca doktorska jest jednym z nielicznych, a biorąc pod uwagę dotychczasowe osiągnięcia, wiodącym w naszym kraju.

### **Omówienie pracy**

Praca została napisana zgodnie z zasadami przyjętymi w tego rodzaju opracowaniach. Liczy 89 stron, a rozpoczyna ją wstęp, w którym Autorka w bardzo trafny sposób przedstawiła celowość oraz potencjalne możliwości wykorzystania olejków eterycznych oraz wyizolowanych z nich związków chemicznych. Określenie ich działania odstrasżającego, a także skuteczności jako naturalnych pestycydów stało się więc głównym celem badań przedstawionych w pracy doktorskiej.

W podrozdziale dotyczącym szkodników magazynowych Autorka krótko scharakteryzowała grupę stawonogów związanych z produktami przechowywanymi w spichrzach i magazynach, opisała ich bezpośrednią i pośrednią szkodliwość,

oddziaływanie na przechowywany materiał oraz negatywny wpływ na zdrowie człowieka. Opisała także najczęściej stosowane sposoby wykrywania tych organizmów.

W podrozdziale zatytułowanym ogólna charakterystyka szkodników magazynowych w przystępny sposób opisana została wieloaspektowa szkodliwość owadów uszkadzających przechowywane produkty jak i ich przystosowania do życia i rozwoju w zamkniętych pomieszczeniach magazynowych. W tej części opracowania, które można także nazwać przeglądem literatury, Autorka przytoczyła wyniki prac oraz zacytowała fragmenty podręczników i innych opracowań ściśle powiązanych z poruszaną tematyką. W drugim podrozdziale przedstawiła zarys historii stosowania preparatów pochodzenia roślinnego, ewolucję metod oraz perspektywy praktycznego wykorzystania w technologii nanocząsteczkowej.

W rozdziale „Cel pracy” sformułowano zadania określone jako tezy pomocnicze – sprawdzenia czy działanie repelentne lub owadobójcze jest bardziej skuteczne w niższych lub wyższych stężeniach badanych olejków i wybranych związków oraz określenie czy wyizolowane, roślinne związki chemiczne wykażą silniejszy efekt repelentny/owadobójczy aniżeli same olejki eteryczne.

W kolejnych dwóch rozdziałach opisane zostały obiekt badań – wołek zbożowy, jak również rośliny z których pozyskiwano materiał do celów badawczych. Dokładnie scharakteryzowano morfologię i bionomię wołka zbożowego ilustrując ten rozdział ciekawymi zdjęciami. Podkreślono znaczenie gospodarcze wołka oraz problemy związane z jego licznym występowaniem.

Spośród roślin do badań wybrano cztery gatunki: koper włoski, kminek zwyczajny, czarnuszkę i miętę polej, które są uprawiane, lub rosną dziko na terenie naszego kraju, co w przyszłości może zapewnić łatwe pozyskanie materiału do masowej produkcji botanicznych pestycydów. W tej części pracy opisane zostały właściwości wytypowanych roślin, ze szczególnym podkreśleniem ich zastosowania w lecznictwie, kosmetyce oraz do celów spożywczych. Przedstawiono także ich skład chemiczny i właściwości olejków eterycznych, uzasadniając jednocześnie wybór zawartych w nich związków chemicznych jako w przyszłości potencjalnych pestycydów pochodzenia roślinnego (botanicznych).

W rozdziale zatytułowanym „Metodyka pracy” szczegółowo opisano przygotowanie oraz przebieg doświadczenia. W wyniku prawidłowo przeprowadzonej hodowli uzyskano jednowiekowe chrząszcze wołka zbożowego (bez rozróżniania płci), które wykorzystano w testach mających na celu sprawdzenie działania odstraszającego lub owadobójczego badanych olejków oraz pozyskanych związków. W doświadczeniu wykorzystano oryginalne urządzenie sprawdzone we wcześniejszych badaniach, w którym każdorazowo umieszczano 40 g pszenicy i testowano zachowanie 40 szt. chrząszczy. Każdy wariant testu powtórzono sześciokrotnie co należy uznać za ilość wystarczającą. Działanie olejków eterycznych oraz pochodzących z nich związków badano w pięciu stężeniach wagowych (piperiton w czterech). Emigrację chrząszczy oraz ich śmiertelność wyrażono za pomocą wskaźników obliczanych według wzorów pochodzących z wcześniejszych badań prowadzonych w Zakładzie, a istotność wyników sprawdzono przy użyciu testu

ANOVA. Opisana metodyka oraz analiza wyników nie budzą zastrzeżeń, a jedyne pytanie jakie nasunęło się recenzentowi dotyczy źródła z którego pozyskano olejki eteryczne oraz sposobu w jaki pozyskano związki chemiczne wykorzystane do doświadczeń.

Wyniki przeprowadzonych badań ujęto na 25 stronach tekstu i przedstawiono graficznie na trzydziestu barwnych, czytelnych rycinach. Opis tabel oraz interpretacja zaprezentowanych wyników nie budzą zastrzeżeń. Uzyskane wyniki w znacznym stopniu potwierdziły tezy zamieszczone we wstępnej części pracy, a w szczególności iż niższe stężenia badanych substancji powodują lepszy efekt odstraszający, a w wyższych stężeniach osiąga się lepszy efekt owadobójczy. Duże znaczenie praktyczne może mieć w przyszłości udowodnienie silnego działania odstraszającego olejku eterycznego z kopru włoskiego i kminku zwyczajnego oraz działania owadobójczego mięty polej i pulegonu.

W obszernym rozdziale zatytułowanym „Dyskusja wyników” Autorka pracy podjęła próbę skonfrontowania własnych wyników badań z rezultatami badawczymi uzyskanymi przez innych autorów. W tym cennym rozdziale, przytoczono i przedyskutowano wyniki badań pochodzących z różnych rejonów świata, prowadzonych w różnych warunkach z użyciem wielu nieraz obcych dla nas gatunków roślin, a także na kilku znanych także w Polsce gatunkach owadów. W całej pracy Autorka wykorzystwała i zacytowała 145 pozycji literatury w większości obcojęzycznych. Są to w większości prace powiązane tematycznie z zakresem badań Autorki. Prace te, w zdecydowanej większości obcojęzyczne i najnowsze (nawet z 2024 roku), świadczą także o bardzo dobrym przygotowaniu Autorki pracy, do prowadzenia takich właśnie badań. Cytowana literatura zawiera także wiele prac wykonanych w tutejszym ośrodku, a w tego rodzaju badaniach doświadczenie Promotora oraz kontynuowanie badań zgodnie z wypracowaną wcześniej metodyką jest niezwykle ważne.

Uzyskane wyniki oraz sformułowane i zamieszczone na końcu pracy wnioski dowodzą, iż badania nad zastosowaniem olejków i związków chemicznych pochodzenia roślinnego jest ze wszech miar wskazane i w przyszłości powinno być kontynuowane. Praca ta jest oczywiście pierwszym krokiem w kierunku uzyskania preparatów możliwych do wykorzystania w praktyce, co nie będzie łatwym zadaniem zważywszy na bariery wynikające z lotności związków, ich słabą rozpuszczalność w wodzie czy łatwość rozkładu. Duże nadzieje wiązane są z nanotechnologią i zapewne w przyszłości prace nad wykorzystaniem olejków i ich składników pójdą w takim właśnie kierunku.

W pracy nie znalazłem istotnych błędów, które obniżyłyby jej rangę, a zamieszczone poniżej uwagi są w głównej mierze wskazówkami na przyszłość, gdy wyniki pracy będą przygotowywane do druku.

#### **Uwagi dotyczące pracy:**

- W rozdziale trzecim dotyczącym wołka zbożowego zamieszczono fotografie obiektu badań zaczerpnięte z innej pracy badawczej, co oczywiście podnosi atrakcyjność tej części pracy, ale nie jest efektem pracy Autorki

- W rozdziale metodyka badań zabrakło informacji dotyczącej źródła, z którego uzyskano olejki eteryczne badanych roślin oraz związków chemicznych z nich pochodzących
- Liczebność chrząszczy w próbach badawczych, przeznaczonych do testów została określonych w poprzednich pracach, dobrze byłoby jednak sprawdzić w przyszłości jakie były proporcje płci u testowanych chrząszczy i czy np. oddziaływanie substancji feromonowych nie wpłynęło na wynik pomiarów
- Na str. 58, 13 wiersz od góry zamiast słowa etanol powinno być anetol

## **Końcowe wnioski**

Praca napisana została bardzo starannie, nie zawiera błędów merytorycznych, literowych i interpunkcyjnych. Autorka wybrała do badań właściwy gatunek owada, a do sprawdzenia stopnia oddziaływania na jego zachowanie oraz śmiertelność, odpowiednio dobrała gatunki roślin. Wyniki pracochłonnych badań, uzyskane na podstawie prawidłowo założonych i konsekwentnie przeprowadzonych doświadczeń są ważne i w przyszłości mogą znaleźć dalsze praktyczne wykorzystanie, lub być punktem wyjścia do dalszych prac w tym zakresie.

Trzeba również podkreślić iż ważnym atutem, który gwarantował prawidłowe przeprowadzenie badań jest duże doświadczenie naukowe Autorki zdobyte podczas wykonywania tego typu doświadczeń, czego wyrazem jest znaczna liczba publikacji naukowych oraz innych opracowań, w których p. mgr Aleksandra Izdebska jest głównym autorem lub współautorem.

W związku z powyższym stwierdzam, iż rozprawa spełnia kryteria określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 1789 ze zm.) w zakresie sztuki, zgodnie z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. przepisy wprowadzające Ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1669 ze zm.) i w związku z tym wnioskuje o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

**Prof. dr hab. inż. Kazimierz Wiech**

**Kraków 24.11.2024**