

Prof. dr hab. Stanisław Ignatowicz
Katedra Ochrony Roślin
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa

Warszawa, 26 marca 2025 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Olgi Kosewskiej p. t.:

„Wybrane właściwości chemiczne ziarniaków zbóż wpływające na strukturę mikrobiomu i aktywność metaboliczną kaptownika zbożowca i wołka ryżowego”

1. Wprowadzenie

Niniejsza ocena została przygotowana w odpowiedzi na pismo Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego (UWM) w Olsztynie prof. dr hab. Agnieszki Pszczółkowskiej z dnia 26 lutego 2025 r. Przedłożona do oceny rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej Wydziału Rolnictwa i Leśnictwa UWM w Olsztynie pod kierunkiem dr hab. inż. Mariusza Nietupskiego, prof. UWM, i pod kierunkiem promotora pomocniczego dr inż. Sebastiana Wojciecha Przemienieckiego. Praca była finansowana z projektu badawczego NCN PRELUDIUM 20 nr 2021/41/N/NZ9/00364.

2. Tytuł, forma i problematyka badawcza rozprawy doktorskiej stanowiącej podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora

Praca doktorska mgr inż. Olgi Kosewskiej p. t.: „Wybrane właściwości chemiczne ziarniaków zbóż wpływające na strukturę mikrobiomu i aktywność metaboliczną kaptownika zbożowca i wołka ryżowego” stanowi zbiór czterech publikacji naukowych opublikowanych w języku angielskim w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Ukazały się w Applied Sciences (IF2023 – 2,500; MEiN – 100 pkt), Journal of Plant Protection Research (IF2024 – 0,700; MEiN – 100 pkt), International Agrophysics (IF2024 – 2,000; MEiN – 100 pkt) i International Journal of Molecular Sciences (IF2024 – 4,900; MEiN – 140 pkt). Prace te są powiązane tematycznie i dotyczą zagadnień związanych z wpływem wybranych właściwości chemicznych ziarniaków zbóż na strukturę mikrobiomu i aktywność metaboliczną kaptownika zbożowca i wołka ryżowego oraz roli mikrobiomu w funkcjonowaniu tych owadów.

Pierwsza publikacja ze zbioru ukazała się w 2023 r., a trzy następne w roku 2024. Publikacja artykułów naukowych w tak krótkim czasie w wysoko punktowanych czasopismach wymagała dobrej współpracy współautorów, ich zaangażowania naukowego i dlatego zasługuje na szczególne uznanie. Wszystkie publikacje tworzące zbiór są współautorskie Kandydatki i Promotorów. Doktorantka jest zawsze pierwszą autorką z potwierdzonym i znaczącym

wkładem. Uważam, że wymienione przez Kandydatkę formy aktywności związane z powstaniem cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską oraz zadeklarowany wkład autorski, pozwalają na weryfikację ogólnej wiedzy teoretycznej z zakresu dyscypliny naukowej 'rolnictwo i ogrodnictwo' oraz umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Tematyka pracy doktorskiej mgr inż. Olgi Kosewskiej wpisuje się w priorytetowy nurt badań poszukujących nowych, bardziej naturalnych, ale skutecznych metod zwalczania szkodników magazynowych. Doktorantka sugeruje w rozprawie, że walce ze szkodnikami produktów przechowywanych można wykorzystać odmiany zbóż charakteryzujące się większą naturalną odpornością lub można zastosować nietoksyczne substancje niszczące symbionty, które pomagają szkodliwym owadom w trawieniu, detoksykacji czy nabyciu odporności na toksyczne substancje chemiczne (insektycydy). Aby zastosować te metody w praktyce należy najpierw dokładnie poznać relacje, jakie tworzy owad z jego wewnętrznym mikrobiomem, funkcjonowanie jego mikrobiomu i aktywności biochemicznej w procesach pokarmowych. Dalej, należy zbadać preferencje pokarmowe różnych szkodników magazynowych, aby ustalić, jakie cechy chemiczne ziarna wpływają na słabszy rozwój mikrobiomu szkodników i tym samym ograniczają lub uniemożliwiają prawidłowe funkcjonowanie owada.

Celem pracy doktorskiej mgr inż. Olgi Kosewskiej było zatem poznanie mechanizmów odporności zbóż poprzez zbadanie wpływu składu chemicznego ziarna różnych odmian pszenicy zwyczajnej i jęczmienia na zaburzenia w żerowaniu kaptownika zbożowca (*Rhyzopertha dominica* F.) i wołka ryżowego (*Sitophilus oryzae* L.) oraz na zmiany w strukturze ich mikrobiomu. Mikrobiom jelitowy wołka i kaptownika wpływa na rozwój i funkcjonowanie tych szkodników, a wyeliminowanie go skutkuje śmiercią wołka zbożowego. Potwierdzono również, że różny skład chemiczny ziarna wpływa zarówno na rozwój badanych szkodników i zmiany ich mikrobiomów. Badania te dostarczyły cennych faktów i danych, które mogą być pomocne przy opracowaniu nowych praktyk przechowywania plonów i do rozwoju nowoczesnych metod walki ze szkodnikami.

3. Formalna analiza rozprawy

Przedłożoną do oceny pracę doktorską mgr inż. Olgi Kosewskiej p. t.: „Wybrane właściwości chemiczne ziarniaków zbóż wpływające na strukturę mikrobiomu i aktywność metaboliczną kaptownika zbożowca i wołka ryżowego” tworzą cztery powiązane tematycznie anglojęzyczne prace opublikowane w latach 2023-2024 w znaczących czasopismach naukowych o łącznej liczbie punktów 440 wg punktacji MNiSW zgodnie z rokiem wydania (z sumarycznym IF wynoszącym 10,1), co jest zgodne z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. z późniejszymi zmianami - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2024 poz. 1571 - Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 11 września 2024 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy).

Publikacje naukowe stanowiące recenzowaną rozprawę są opracowaniami współautorskimi, ale zawsze Doktorantka jest pierwszym autorem. Deklarowany wkład pracy Doktorantki w opracowaniach współautorskich jest bardzo duży, co pokrywa się z zakresem i udziałem prac

przedstawionych w oświadczeniach zamieszczonych w Załącznikach nr 4 i 5 do Załącznika nr 1 do Uchwały Nr 362 Senatu UW-M w Olsztynie z dnia 27 czerwca 2023 r. wprowadzającej procedurę postępowania w sprawie nadania stopnia doktora. Wkład Doktorantki w przygotowanie poszczególnych publikacji naukowych polegał na opracowaniu koncepcji, współudziale w opracowaniu metodyki, wykonywaniu analiz, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników oraz w uczestniczeniu w przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptów. Tym samym Doktorantka spełnia jeden z warunków stawianych kandydatom na stopień doktora, a mianowicie opanowanie umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, który jest wymieniony w Ustawie - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2024 poz. 1571).

Rozprawa doktorska obejmuje 54 strony druku. Dołączone do niej zostały cztery oryginalne publikacje bazowe wraz z materiałami dodatkowymi zajmującymi dalsze 70 stron plus strony z oświadczeniami współautorów prac. Po wykazie publikacji składających się na rozprawę doktorską, po oświadczeniach Doktorantki i promotorów, podano Streszczenie w języku polskim i angielskim, co jest zgodnie z wymogiem Ustawy - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2024 poz. 1571). Dalej praca jest podzielona na 9 rozdziałów:

1. Wstęp kilkustronicowy, w którym podano syntetyczną charakterystykę problematyki. Przedstawiono krótko owady – obiekty badań, ich szkodliwość, metody ich zwalczania, a także rolę mikrobiomu w funkcjonowaniu owadów – szkodników magazynowych.

2. Cel, hipotezy badawcze i zakres badań.

3. Organizacja i metodyka badań

4. Omówienie publikacji stanowiących rozprawę doktorską

5. Podsumowanie i wnioski

6. Bibliografię

7. Spis tabel i figur

8. Kopie prac wchodzących w skład rozprawy pracy doktorskiej.

9. Oświadczenia Doktorantki i współautorów dotyczące ich wkładu w przygotowanie opublikowanych 4 artykułów naukowych wchodzących w monotematyczny cykl, tj.:

- Kosewska, O., Przemieniecki, S. W. i Nietupski, M. (2023). The effect of antibiotics on bacteriome of *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica* as a factor determining the success of foraging: A chance for antibiotic therapy in grain stores. *Applied Sciences*, 13 (3), 1576. <https://doi.org/10.3390/app13031576>, IF2023 – 2,500; MEiN – 100 pkt.
- Kosewska, O., Nietupski, M., Koronkiewicz, S., Przemieniecki, S. W. (2024). The chemical grain composition of wheat and barley affects the development of the lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* F.) and the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.). *Journal of Plant Protection Research*. <https://doi.org/10.24425/jppr.2024.150254>, IF2024 – 0,700; MEiN – 100 pkt.
- Kosewska, O., Przemieniecki, S. W., Koronkiewicz, S., Nietupski, M. (2024). Effect of different chemical properties of cereal grains on the foraging and microbiome of the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.). *International* <https://doi.org/10.31545/intagr/185216>, IF2024 – 2,000; MEiN – 100 pkt.
- Kosewska, O., Przemieniecki, S. W., Nietupski, M. (2024). Influence of the Chemical Properties of Cereal Grains on the Structure and Metabolism of the Bacteriome of

Rhyzopertha dominica (F.) and Its Development: A Cause–Effect Analysis. International Journal of Molecular Sciences; 25(18): 10130. <https://doi.org/10.3390/ijms251810130>, IF2024 – 4,900; MEiN – 140 pkt.

Bazę bibliograficzną Rozprawy stanowią w pierwszej pracy – 47 pozycji, drugiej pracy – 45 pozycji, trzeciej – 54 pozycje, czwartej – 64 pozycje, prawie wszystkie anglojęzyczne, pod względem formalnym cytowane w sposób właściwy. Cytowana literatura pochodzi w większości z ostatnich dwóch dekad, jest ściśle związana z poruszonymi problemami badawczymi i stanowi doskonale kompendium wiedzy dla czytelnika, co wyraźnie podkreślam.

Biorąc powyższe informacje i oceny pod uwagę stwierdzam, że z formalnego punktu widzenia rozprawa mgr inż. Olgi Kosewskiej spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim, w tym kryteria wymienione w Ustawie - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2024 poz. 1571).

4. Merytoryczna analiza pracy

W 2050 r. będzie 10,5 miliarda ludzi. Do ich wyżywienia produkcja żywności ma wzrosnąć o 60%, a może więcej, bo szkodniki niszczą 17% światowej produkcji. Zwalczanie owadów i roztoczy niszczących przechowywane produkty żywnościowe nie jest łatwe. W 2005 r. został wycofany z użycia doskonały bromek metylu, gdyż niszczył warstwę ozonową w stratosferze. Pozostał nam tylko fosforowodór do fumigacji zbóż i innych surowców żywnościowych. Gdy przez dziesięciolecia tylko fosforowodór jest używany do walki ze szkodnikami żywności, to nie dziwny się, że szkodniki wytwarzają rasy odporne na ten gaz i w wielu miejscach fosforowodór już 'nie działa'. Można stosować środki ochrony roślin na przechowywane ziarno konsumpcyjne, ale takie zabiegi nie są powszechnie akceptowane. Konieczne jest więc opracowanie bezpiecznych dla ludzi i środowiska metod zwalczania owadów i roztoczy, które niszczą przechowywane produkty żywnościowe, co wyraźnie zasugerowała Kandydatka we 'Wstępie' do swojej pracy doktorskiej.

W wielu ośrodkach naukowych badany jest mikrobiom jelitowy owadów, również szkodników przechowywanych produktów. Właściwości (skład i aktywność) mikrobiomu mogą znacząco wpływać na zdolność owadów do trawienia pokarmu, a także na ich odporność na toksyny i patogeny. Z tych powodów analiza aktywności, funkcji i składu mikrobiomu układu pokarmowego owadów może być potrzebna do rozwiązania problemów, jakie stwarzają nam szkodniki magazynowe, a więc i do opracowania nowej metody ich zwalczania albo do uzupełnienia integrowanych metod zwalczania (IPM). Przesłanki te wymagają przeprowadzenia kompleksowych badań, w których poznane zostaną preferencje pokarmowe najważniejszych gatunków szkodników magazynowych oraz ustalone będą m. in. cechy chemiczne ziarna, które mogą determinować ich żerowanie. Ustalenie czynników wpływających na zwiększoną, ale naturalną odporność ziarna na żerowanie szkodników magazynowych może pozwolić na ograniczenie stosowania insektycydów podczas jego przechowywania.

W związku z powyższym Kandydatka wybrała następujące główne cele pracy doktorskiej: (a) poznanie mechanizmów odporności zbóż poprzez zbadanie wpływu składu chemicznego różnych odmian pszenicy zwyczajnej i jęczmienia na zaburzenia w żerowaniu kaptownika zbożowca i wołka ryżowego oraz na zmiany w strukturze ich mikrobiomu; (b) zbadanie zależności między mikrobiomem tych owadów, a ich rozwojem i żerowaniem. Postawiła 7 hipotez badawczych (H1 – H7), których weryfikację zaplanowano poprzez poszczególne zadania badawcze.

Badania przedstawione w pracy doktorskiej podzielono na cztery etapy. Etap I obejmował (a) określenie struktury mikrobiomu u kaptownika zbożowca i wołka ryżowego; (b) Określenie wpływu antybiotyków na mikrobiom i przeżywalność ww. szkodników. Etap II dotyczył badań nad wpływem składu chemicznego odmian zbóż na rozwój szkodników. W Etapie III dokonano selekcji odmian pszenicy i jęczmienia na podstawie parametrów rozwojowych kaptownika zbożowca i wołka ryżowego do wykorzystania w następnym etapie badań. Etap IV dotyczył badań nad wpływem właściwości chemicznych ziarna zbóż na żerowanie i mikrobiom szkodników z uwzględnieniem wybranych odmian pszenicy i jęczmienia.

Badania nad ustaleniem czynników chemicznych warunkujących naturalną odporność ziarna różnych odmian pszenicy i jęczmienia na żerowanie dwóch gatunków szkodników magazynowych: kaptownika zbożowca i wołka ryżowego przeprowadzono z użyciem 10 odmian pszenicy i 10 odmian jęczmienia. Metodyka badania wpływu antybiotyków na mikrobiom szkodników, analiz składu chemicznego ziaren, badania parametrów rozwojowych szkodników i oceny wpływu właściwości chemicznych ziaren badanych zbóż i ich różnych odmian na mikrobiom ww. szkodników jest prawidłowa. Uzyskane wyniki zostały poprawnie opracowane za pomocą dobrze dobranych testów statystycznych.

Artykuły naukowe wchodzące w skład pracy doktorskiej zostały opublikowane w renomowanych czasopismach, podlegały więc wcześniej krytycznej ocenie przez specjalistów, recenzentów i wydawców. Poniżej wymienię więc najważniejsze osiągnięcia Doktorantki przedstawione w poszczególnych pracach.

W pierwszej publikacji Kosewska, O., Przemieniecki, S. W. i Nietupski, M. (2023). The effect of antibiotics on bacteriome of *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica* as a factor determining the success of foraging: A chance for antibiotic therapy in grain stores. *Applied Sciences*, 13 (3), 1576 wykazano, że wołki giną bez symbiontów bakteryjnych, natomiast kaptownicy mogą przeżyć krótki okres bez pożytecznych mikroorganizmów wchodzących w skład ich bakteriobiomu. Wykazano, że życie owadów bardzo zależy od symbiontów obligatoryjnych, a zniszczenie symbiotycznego bakteriobiomu powoduje poważne zaburzenia w fizjologii owadów. To właśnie należy wykorzystywać przy opracowywaniu nowych metod walki ze szkodnikami.

Druga praca z cyklu (Kosewska, O., Nietupski, M., Koronkiewicz, S., Przemieniecki, S. W. (2024). The chemical grain composition of wheat and barley affects the development of the lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* F.) and the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.). *Journal of Plant*

Protection Research.) dostarczyła niezbitych dowodów na to, że chemiczny skład ziarna pszenicy i jęczmienia wpływa na rozwój kaptownika zbożowca i wołka ryżowego. Kaptownicy znacznie lepiej rozwijały się na jęczmieniu, natomiast wołki lepiej na pszenicy. Skład chemiczny ziarniaków, a szczególnie zawartość fenoli, kwasów tłuszczowych i białka, odgrywa ważną rolę w rozwoju wołka ryżowego i kaptownika zbożowca. Odmiany zbóż o wysokiej zawartości białka i tłuszczu są bardziej atrakcyjne dla kaptownika zbożowca i wołka ryżowego, natomiast przeciwutleniacze zawarte w ziarnie stanowią naturalną barierę przed tymi szkodnikami. Tego typu badania należy kontynuować, gdyż ich wyniki mogą być potrzebne w opracowaniu nowych metod zwalczania szkodników.

W trzeciej pracy z cyklu (Kosewska, O., Przemieniecki, S. W., Koronkiewicz, S., Nietupski, M. (2024). Effect of different chemical properties of cereal grains on the foraging and microbiome of the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.). International Agrophysics, 38 (2), 165–176) wykazano, że mniejszy poziom konsumpcji ziarna pszenicznego odmiany 'Rusałka' był związany z zaburzeniem aktywności bakterii *Sodalis* sp., które są endosymbiontami różnych owadów. Żerowanie na ziarniakach tej odmiany spowodowało zaburzenia aktywności proteolitycznej, denitryfikacji i aktywności α -glukozydazy w przewodzie pokarmowym wołków. Wykazano, że zawartość białka, tłuszczu i cukrów oraz profil kwasów tłuszczowych w ziarniakach jęczmienia ma wpływ na żerowanie wołka ryżowego. Ziarniaki odmiany najmniej podatnej wywołują wysoką aktywność N acetylo- β -glukozaminidazy w przewodzie pokarmowym wołka, enzymu m. in. ściśle związanego ze stanem zapalnym nabłonka.

W czwartej pracy zatytułowanej 'Influence of the Chemical Properties of Cereal Grains on the Structure and Metabolism of the Bacteriome of *Rhyzopertha dominica* (F.) and Its Development: A Cause–Effect Analysis' stwierdzono, że ziarna zbóż o wyższej zawartości białka ogólnego i cukrów rozpuszczalnych w wodzie są bardziej atrakcyjne dla kaptownika zbożowca, podczas gdy odmiany o niższej zawartości tych składników stają się siedliskiem, na którym szkodnik tworzy mniej liczne pokolenia potomne. Zawartość kwasu linolowego (C18:2) w ziarnach wpływa na zmiany składu mikrobiomu kaptownika, co może obniżać aktywność ich żerowania. Wykazano, że bakterie z rodzajów *Pantoea*, *Ralstonia*, *Stenotrophomonas* i *Acinetobacter* odgrywają kluczową rolę w metabolizmie kaptownika, wspomagając jego adaptację do różnych warunków pokarmowych.

Podsumowując stwierdzam, że wyniki pracochłonnych i kompleksowych badań przedstawione w recenzowanej pracy doktorskiej zostały bardzo szczegółowo przeanalizowane i przedyskutowane, zarówno na tle bieżącej literatury zagranicznej, jak i krajowej, dlatego wartość zaprezentowanych w rozprawie publikacji jest wysoka. Doktorantka wykazała się dobrą znajomością literatury, którą umiejętnie wykorzystała w czasie planowania doświadczeń, opisywania wyników i prowadzenia dyskusji, które są napisane właściwie. Są one wyznacznikiem dojrzałości naukowej mgr inż. Olgi Kosewskiej. Uzyskane wyniki mają ogromne znaczenie, tak z naukowego, jak i praktycznego punktu widzenia.

Chciałbym tu jeszcze raz wyraźnie podkreślić praktyczne znaczenie badań opisanych w pracy doktorskiej mgr inż. Olgi Kosewskiej. Uzyskane wyniki są bardzo pomocne przy opracowaniu

nowych metod zwalczania szkodników. Można wyselekcjonować substancje bakteriostatyczne pochodzenia naturalnego lub będące wynikiem postępu odmianowego hodowli roślin, które oddziałują szkodliwie na bakteriobiom owadów i przez to są letalne dla szkodnika. Zaburzenia w funkcjonowaniu niektórych enzymów odpowiedzialnych za metabolizm białek oraz kwasów tłuszczowych mogą mieć wpływ na żerowanie szkodników przechowywanych produktów.

5. Wniosek końcowy

Wyraźnie zaznaczam, że treść pracy doktorskiej „Wybrane właściwości chemiczne ziarniaków zbóż wpływające na strukturę mikrobiomu i aktywność metaboliczną kaptownika zbożowca i wołka ryżowego” kwalifikuje mgr inż. Olgi Kosewską do ubiegania się o stopień doktora nauk rolniczych w zakresie dyscypliny naukowej rolnictwo i ogrodnictwo zgodnie z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. 'Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce' z późniejszymi zmianami (tekst jednolity Dz. U. z 2024 r. poz. 1571).

Biorąc pod uwagę kompleksowość badań, rangę uzyskanych wyników, wysoki poziom naukowy rozprawy doktorskiej, a także dojrzałość naukową Doktorantki, oraz fakt, że praca doktorska mgr inż. Olgi Kosewskiej spełnia kryteria określone w Ustawie Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2024 poz. 1571), składam zgodnie z obowiązującymi przepisami prawnymi formalny wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o jej przyjęcie i dopuszczenie Pani mgr inż. Olgi Kosewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnoszę o wyróżnienie pracy nagrodą. Badania przedstawione w pracy doktorskiej mgr inż. Olgi Kosewskiej przyczyniły się do poznania mechanizmów odporności zbóż poprzez dokładne i pracochłonne zbadanie wpływu składu chemicznego różnych odmian pszenicy zwyczajnej i jęczmienia na zaburzenia żerowania kaptownika zbożowca i wołka ryżowego oraz na zmiany w strukturze ich mikrobiomu. Bardzo cenne są wyniki badań nad zależnościami między mikrobiomem tych owadów, a ich rozwojem i żerowaniem, gdyż wyniki tych badań można wykorzystać do wzbogacenia integrowanych metod zwalczania szkodników żywności, a tym samym do podniesienia bezpieczeństwa żywności. Cenię bardzo wysoko pracę doktorską mgr inż. Olgi Kosewskiej za jej kompleksowość i szeroki zakres badań, od ekologii populacji owadów po analizy biochemiczne i molekularne.

Warszawa, 26 marca 2025 r.

prof. dr hab. Stanisław Ignatowicz