

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Olgi Kosewskiej
pt. „Wybrane właściwości chemiczne ziarniaków zbóż wpływające na strukturę
mikrobiomu i aktywność metaboliczną kaptownika zbożowca i wołka ryżowego”**

Podstawą do wykonania recenzji było pismo Przewodniczącej Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie Pani Prof. dr hab. Agnieszki Pszczółkowskiej z dn. 26.02.2025 r. (WRiL-DZ.5201.1.2025), związane z powołaniem mnie na recenzenta przez Radę Naukową Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo UWM w Olsztynie.

Praca doktorska mgr inż. Olgi Kosewskiej została wykonana w Katedrze Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej, pod kierunkiem dr hab. inż. Mariusza Nietupskiego prof. UWM oraz promotora pomocniczego dr inż. Sebastiana Wojciecha Przemienieckiego.

Prace badawcze finansowane były z projektu NCN: 2021/41/N/NZ9/00364, w ramach konkursu PRELUDIUM 20, pt. „Właściwości chemiczne ziarniaków zbóż wpływające na rozwój, metabolizm i mikrobiom kaptownika zbożowca (*Rhyzopertha dominica* F.) i wołka ryżowego (*Sitophilus oryzae* L.)”. Pełniona przez mgr inż. Olgę Kosewską funkcja to kierownik projektu. Okres realizacji: 3 stycznia 2022 do 2 września 2024. Wartość projektu: 137 943 zł.

Układ i formalna ocena rozprawy

Rozprawa doktorska mgr Olgi Kosewskiej powstała na bazie 4 powiązanych tematycznie publikacji naukowych wpisujących się spójnie w zagadnienia związane 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.

Spis publikacji:

1. 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> IF 2023 – 2,5; MEiN – 100 pkt.
2. 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> IF 2024 – 0,7; MEiN – 100 pkt.
3. 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. <https://doi.org/10.31545/intagr/185216> IF 2024 – 2,0; MEiN – 100 pkt.
4. 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> IF 2024 – 4,9; MEiN – 140 pkt.

Sumaryczna liczba punktów uzyskana za powyższe publikacje to 440 pkt (wg Komunikatu Ministra Edukacji i Nauki w sprawie wykazu czasopism naukowych z dnia 5 stycznia 2024 roku), natomiast sumaryczny współczynnik wpływu Impact Factor: 10,1. Prace zostały opublikowane w latach 2023 (1) oraz 2024 (3). Wszystkie artykuły są wieloautorskie i oparte o wyniki uzyskane w badaniach własnych. Doktorantka jest pierwszym autorem wszystkich artykułów. Na podstawie oświadczeń autorskich udział Doktorantki w każdej z opublikowanych prac można ocenić jako wysoki. We wszystkich publikacjach udział mgr inż. Olgi Kosewskiej polegał na: opracowaniu koncepcji, współudziale w przygotowaniu metodyki, wykonywaniu analiz, opracowaniu i interpretacji wyników, wizualizacji wyników, uczestnictwa w przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu do druku. Wszyscy współautorzy w odrębnych oświadczeniach potwierdzili indywidualny wkład Doktorantki w powstanie publikacji.

W świetle przedstawionego tytułu i celu rozprawy doktorskiej, dobór artykułów nie budzi moich zastrzeżeń. Zostały one prawidłowo zestawione, chronologicznie zaplanowane i zrealizowane. Prace stanowiące rozprawę przed opublikowaniem w wydawnictwach naukowych podlegały wnikliwym i rygorystycznym recenzjom. Wszystkie artykuły uzyskały pozytywne recenzje. Oddzielnie nie podlegają zatem merytorycznej, ponownej ocenie w niniejszej recenzji. Zaznajomienie się z treścią tych publikacji, a zwłaszcza z metodyką, analizą wyników, dyskusją oraz wnioskami, nie wzbudziło we mnie żadnych krytycznych uwag.

W skład rozprawy doktorskiej poza wymienionymi publikacjami wchodzi: Streszczenie, Summary, Wstęp Cel, hipotezy badawczej i zakres badań, Organizacja i metodyka badań, Omówienie publikacji stanowiących rozprawę doktorską, Podsumowanie i wnioski, Bibliografia. Stwierdzam, że układ pracy jest prawidłowy, typowy dla dysertacji doktorskich bazujących na opublikowanych pracach twórczych. W rozprawie zamieszczono również wszystkie niezbędne oświadczenia w tym: Doktorantki, Promotora, Promotora pomocniczego oraz Współautorów publikacji. Całość rozprawy liczy 138 stron.

Uzasadnienie problematyki badawczej

Szkodniki magazynowe mogą przyczynić się do powstawania znacznych strat przechowywanego ziarna zbóż. Ocenia się, że szkodniki, zwłaszcza owady, niszczą od 10 do nawet 30% zebranych plonów ziarna, co zagraża bezpieczeństwu żywnościowemu ludności w wielu krajach świata. Wśród najgroźniejszych gatunków znajdują się: kapturek zbożowiec (*Rhyzopertha dominica* F.) oraz wołek ryżowy (*Sitophilus oryzae* L.), będące przedmiotem badań mgr Olgi Kosewskiej. Stosowanie chemicznych środków owadobójczych do zwalczania szkodników magazynowych może wywoływać negatywne skutki dla środowiska oraz zdrowia zwierząt i ludzi, zatem poszukiwanie bezpieczniejszych, niechemicznych metod może stanowić obiecującą alternatywę. Badania przeprowadzone przez Doktorantkę wpisują się w aktualny nurt poszukiwań niechemicznych metod ochrony roślin przed agrofagami, gdyż wiedza dotycząca mikrobiomu szkodników magazynowych może być wykorzystana w opracowanie nowych sposobów ograniczenia żerowania kapturka zbożowca i wołka ryżowego.

Prezentowane powyżej aspekty dowodzą, że wybór tematyki rozprawy doktorskiej był uzasadniony, a problem jest niezwykle ważny, zarówno w skali naszego kraju, jak i globalnej.

Ocena merytoryczna rozprawy

Rozprawa doktorska dotyczy oceny wpływu składu chemicznego ziarna różnych odmian pszenicy i jęczmienia na rozwój kapturka zbożowca i wołka ryżowego oraz strukturę ich mikrobiomu. Mgr inż. Olga Kosewska sprecyzowała hipotezy badawcze, które sprowadzają się do ustalenia czynników chemicznych warunkujących naturalną odporność ziarna różnych odmian pszenicy i jęczmienia na żerowanie kapturka zbożowca i wołka ryżowego poprzez kompleksowe badania ekologii populacji tych gatunków. Poprzez analizy biochemiczne i molekularne zaplanowano określenie mechanizmów odpowiedzialnych za trawienie pokarmu przez wymienione szkodniki i kierunkowe zaburzenia tego procesu.

We Wstępie Doktorantka uzasadnia podjęcie się zadań realizowanych w pracy doktorskiej. Przekonuje, że owadzie szkodniki magazynowe stanowią poważne zagrożenie dla przechowywanych produktów rolnych, powodując znaczne szkody i straty finansowe, co zagraża bezpieczeństwu żywnościowemu w skali globalnej. W tej części powołuje się na liczne opublikowane dane liczbowe. Zgadzam się z przedstawionym uzasadnieniem, przekonują mnie także zamieszczone dane dotyczące szkód powodowanych przez szkodniki magazynowe, choć w literaturze można znaleźć wiele rozbieżności. Mam tylko nieco wątpliwości, czy rzeczywiście owady i roztocze odpowiedzialne są za zniszczenia tylko 13 mln ton zbóż w skali światowej, skoro łączna produkcja wynosi ok. 2,8 mld ton. Zbytним uproszczeniem jest stwierdzenie, że szkodnikami w magazynach są chrząszcze i motyle, gdyż za to odpowiedzialne są tylko nieliczne gatunki z wymienionych rzędów owadów. W kolejnym fragmencie Wstępu krótko scharakteryzowane są dwa gatunki chrząszczy będące przedmiotem badań w pracy doktorskiej. Zgadzam się, że obecnie należą one do niebezpiecznych szkodników przechowywanego ziarna zbóż, a wołek ryżowy zyskuje na znaczeniu. Brakuje jednak prac naukowych, zwłaszcza z Polski, w których określona została szkodliwość obu wymienionych gatunków. Liczne doniesienia z praktyki wskazują, że wciąż groźnymi szkodnikami ziarna zbóż, albo nawet bardziej groźnymi są wołek zbożowy oraz trojszyki. W tej części Wstępu można też było zamieścić nieco więcej szczegółów dotyczących biologii rozwoju badanych chrząszczy oraz ich szkodliwości, co stanowiłoby lepszą podstawę do opracowania kolejnego fragmentu, czyli Metod zwalczania szkodników magazynowych. Doktorantka wykazuje, że do zwalczania szkodników magazynowych często stosuje się metody chemiczne, zauważając negatywne skutki stosowania zoocydów w postaci pozostałości w produktach żywnościowych, czy też możliwości uodparniania się owadów i roztoczy na określone substancje czynne. Przydałoby się wskazać, jakie możliwości zwalczania chemicznego są obecnie dopuszczalne w naszym kraju. W zasadzie nie ma tu też wzmianki o innych metodach zwalczania szkodników magazynowych, wbrew zamieszczonemu podtytułowi. Autorka sprawnie jednak naprowadza czytelnika na możliwości wykorzystania wiedzy na temat mikrobiomu jelitowego owadów do opracowania nowych metod zwalczania szkodników magazynowych. Szeroko opisuje rolę mikrobiomu w funkcjonowaniu tych organizmów, szczególnie w kontekście pracy układu pokarmowego. Uważam ten fragment za ważny, ciekawie przygotowany, dający podstawę do właściwej interpretacji uzyskanych wyników.

W kolejnej części rozprawy Doktorantka jasno i zrozumiale formułuje cele pracy. Nie było konieczne zamieszczanie krótkiego uzasadnienia w tym rozdziale, gdyż informacje takie zamieszczono już we Wstępie. Celem badań, określonym jako nadrzędny, było 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. Ponadto, celem było również zbadanie zależności między mikrobiomem wymienionych owadów, a ich rozwojem i żerowaniem. Mało precyzyjny wydaje się natomiast cel pośredni sformułowany jako podniesienie bezpieczeństwa żywności w przechowywaniu zbóż, w kontekście integrowanych metod ochrony roślin. W celu określenia wpływu składu chemicznego ziarna pszenicy i jęczmienia na rozwój *R. dominica* i *S. oryzae* oraz strukturę ich mikrobiomów, Autorka prawidłowo sformułowała siedem hipotez badawczych.

W rozdziale Organizacja i metodyka badań Doktorantka przejrzysto i logicznie, w formie schematu, określa poszczególne etapy badań, jakie zostały włączone w opracowanie rozprawy. W pierwszym etapie określana jest struktura mikrobiomu kaptownika zbożowca i wołka ryżowego, a dodatkowo oceniany jest wpływ antybiotyków na mikroorganizmy zamieszkujące przewód pokarmowy podanych gatunków chrząszczy (publikacja 1). Następnie scharakteryzowane są wszystkie odmiany pszenicy i jęczmienia jakie wykorzystano do wstępnych analiz. Do oceny wyznaczono łącznie aż 20 odmian zbóż, co czyni te badania kompleksowymi. Wybrano odmiany powszechnie uprawiane w północnej Polsce o szczególnych cechach agronomicznych i jakościowych, choć nie jestem w tym miejscu pewien co te „szczególne cechy” oznaczają

(publikacja 2). W trzecim etapie przeprowadzono selekcję odmian na podstawie wyników badań opublikowanych w publikacji 2. Zarówno dla wołka, jak i kapturnika wybrano po 3 odmiany jęczmienia oraz 3 odmiany pszenicy, które charakteryzowały się największą, najmniejszą lub pośrednią naturalną odpornością na żerowanie. Naturalną odporność ziarna zdefiniowano jako zdolność do ograniczania liczebności pokolenia potomnego szkodnika przyjmując, że im liczniejsze pokolenie potomne rozwijało się na ziarnie danej odmiany tym była ona mniej odporna. W czwartym etapie prac przeprowadzono badania nad wpływem właściwości chemicznych ziarna zbóż wybranych odmian pszenicy i jęczmienia na żerowanie i mikrobiom dwóch gatunków szkodników (publikacje 3 i 4). W końcowej części podrozdziału Doktorantka wystarczająco szczegółowo podaje informacje dotyczące warunków hodowli *R. dominica* i *S. oryzae*, jaką prowadzono w laboratorium Katedry Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej UWM w Olsztynie.

W podrozdziale Metody mgr Olga Kosewska prawidłowo i wystarczająco szczegółowo opisała metody badawcze zastosowane do oceny wpływu antybiotyków na mikrobiom szkodników, analizy składu chemicznego ziaren, badań parametrów rozwojowych *R. dominica* i *S. oryzae* oraz oceny wpływu właściwości chemicznych ziaren zbóż różnych odmian na mikrobiom dwóch gatunków szkodników. W badaniach zastosowano wystarczającą liczbę powtórzeń, co pozwoliło na przeprowadzenie głębokiej analizy statystycznej wyników. Wykorzystane w analizie danych testy statystyczne i wskaźniki są odpowiednie w tego typu badaniach. Zastosowane metody badawcze oceniam jako prawidłowe, adekwatne do realizacji założonych celów badań oraz hipotez.

Zasadniczą częścią rozprawy są załączone publikacje naukowe. Na ich podstawie, w rozprawie Doktorantka bardzo przystępnie opracowała rozdział Omówienie publikacji. W przypadku każdej z czterech publikacji przedstawiła genezę, cele szczegółowe, omówienie uzyskanych wyników oraz podsumowanie. Należy stwierdzić, że każda z publikacji jest nowatorska i stanowi duże osiągnięcie w poznaniu mikrobiomów jelitowych kapturnika zbożowego oraz wołka ryżowego.

Na podstawie rozdziałów Omówienie publikacji, Podsumowanie i wnioski oraz na podstawie analizy zamieszczonych w rozprawie publikacji wnioskuję, że najważniejsze osiągnięcia naukowe jakie uzyskała mgr inż. Olga Kosewska to:

- 1) Stwierdzenie, że mikrobiom jelitowy *R. dominica* i *S. oryzae* wpływa na ich rozwój i funkcjonowanie, a sterylizacja wewnętrznego bakteriobiomu owadów wywołuje zróżnicowany wpływ na przeżywalność badanych owadów. Wołek ryżowy wykazuje wyższy poziom uzależnienia od symbiotycznych bakterii, co objawia się większymi zakłóceniami metabolicznymi i strukturalnymi po zastosowaniu sterylizacji wewnętrznego mikrobiomu i w konsekwencji mniejszą przeżywalnością. W przypadku kapturnika zbożowca po zastosowaniu sterylizacji mikrobiomu zachowuje się stabilność metaboliczna, a przeżywalność chrząszcza nie zmienia się.
- 2) Wniosek, że skład chemiczny ziarna badanych odmian jęczmienia i pszenicy, ze szczególnym uwzględnieniem zawartości fenoli, kwasów tłuszczowych i białka odgrywa kluczową rolę w regulacji cyklu życiowego *R. dominica* i *S. oryzae*, tym samym wpływając na ich naturalną odporność na żerowanie szkodników. Kapturnik rozwija się znacznie lepiej na badanych odmianach jęczmienia, natomiast wołek na badanych odmianach pszenicy.
- 3) Określenie największej naturalnej odporności na rozwój i żerowanie *R. dominica* w przypadku ziarna jęczmienia odmiany Radek oraz ziarna pszenicy odmiany Rusalka. Najmniej odpornym ziarnem na żerowanie *R. dominica* w przypadku pszenicy było ziarno odmiany Impresja, a w przypadku jęczmienia Trofeum. Dla *S. oryzae* najbardziej odpornym było ziarno jęczmienia odmiany KWS Dante, a pszenicy odmiany Telimena. Najmniej odporne na żerowanie wołka ryżowego było ziarno pszenicy odmiany Rusalka i jęczmienia odmiany Radek.
- 4) Wykazanie, że wzrost liczby osobników potomnych *S. oryzae* był skorelowany ze wzrostem zawartości białka w badanych odmianach pszenicy, wzrostem zawartości kwasów tłuszczowych w badanych odmianach jęczmienia oraz ujemnie skorelowany z zawartością przeciwutleniaczy w

badanych odmianach pszenicy i jęczmienia. Wzrost liczby osobników potomnych *R. dominica* był skorelowany ze wzrostem zawartości włókna w badanych odmianach pszenicy i wzrostem zawartości białka w badanych odmianach jęczmienia.

5) Stwierdzenie, że zróżnicowane właściwości chemiczne ziarna wybranych odmian zbóż mają istotny wpływ na skład mikrobiomu *R. dominica* i *S. oryzae*, co może przekładać się na zdolności trawienne tych owadów.

6) Udowodnienie, że ziarno charakteryzujące się odmiennym składem chemicznym, znacząco wpływa na proces jego trawienia oraz metabolizm *R. dominica* i *S. oryzae*. Niektóre odmiany, ze zwiększoną naturalną odpornością, prowadziły do pogorszenia homeostazy, ograniczenia żerowania, prawdopodobnego upośledzenia działania układu immunologicznego oraz wzrostu udziału potencjalnych entomopatogenów.

7) Wykazanie istotnego związku między mikrobiomem a procesami trawiennymi. Mikroflora jelitowa *R. dominica* i *S. oryzae* wspomaga trawienie składników odżywczych, takich jak cukry i białka oraz wpływa na aktywność enzymatyczną owadów.

Za bardzo istotne i cenne uważam zamieszczenie uwag ogólnych w ostatniej części rozdziału Podsumowanie i Wnioski, które także można było wypunktować jako ostatni wniosek. W tej części Doktorantka jasno wskazuje, jakie znaczenie mogą mieć jej osiągnięcia, zarówno dla nauki, jak i praktyki.

W części opisowej rozprawy Doktorantka wykorzystuje 75 pozycji literaturowych, łącznie ze źródłami internetowymi. W Bibliografii cytuje je prawidłowo i w ujednolicony sposób. W rozdziale tym znajdują się nieliczne, drobne niedociągnięcia techniczne lub braki, np. w pozycji Hagstrum i Flinn 2014 brakuje stron i niepotrzebnie podawane są pełne imiona pierwszego autora. Dobór źródeł bibliograficznych jest adekwatny do zamieszczanych treści, a większość stanowią zagraniczne publikacje i książki naukowe. Dominują prace opublikowane w ostatnich 20 latach (90% prac). Dwie prace cytowane w tekście nie znalazły się w Bibliografii, tj. Clarke 1993 oraz Braak i Šmilauer 1998. Część cytowań w tekście podawanych jest nieprawidłowo, np. we Wstępie, gdyż podając nazwiska autorów cytowanych źródeł nie powinno się wpisywać skrótów ich imion.

Zamieszczone w Ocenie merytorycznej krytyczne uwagi nie obniżają wysokiej wartości naukowej recenzowanej pracy doktorskiej. Jest ona nowatorska i bardzo dobrze przygotowana. Prace badawcze zostały wykonane w jednostce naukowej o dużym doświadczeniu i uznaniu w środowisku naukowym w zakresie badań dotyczących szkodników magazynowych.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny praca doktorska Pani mgr inż. Olgi Kosewskiej merytorycznie jest oryginalnym rozwiązaniem problemu badawczego i mieści się w obszarze nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Została wykonana poprawnie pod względem metodycznym, co pozwoliło na prawidłową interpretację uzyskanych wyników i sformułowanie wniosków. Wartość naukową osiągnięć wynikających z przeprowadzonych badań oceniam bardzo wysoko. Rozprawa ma duże znaczenie poznawcze i aplikacyjne w ochronie żywności przed szkodnikami, a założone cele badań zostały osiągnięte. Wykazane drobne niedociągnięcia nie zmniejszają wartości naukowej rozprawy. Uważam, że przedstawiona do oceny praca spełnia wszelkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim w dyscyplinie naukowej rolnictwo i ogrodnictwo oraz spełnia warunki określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r. poz. 1571). **Rozprawę doktorską mgr inż. Olgi Kosewskiej oceniam jednoznacznie pozytywnie, w związku z czym wnioskuję o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Prof. dr hab. inż. Jacek Twąrdowski