

Lublin, 05.11.2024 r.

Prof. dr hab. Alicja Buczek

**ZAKŁAD BIOLOGII I PARAZYTOLOGII**  
Katedry Farmakologii i Biologii  
Wydziału Nauk o Zdrowiu  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
20-080 Lublin, ul. Radziwiłłowska 11  
tel.814486060, biologiaparazytologia@umlub.pl

Ocena rozprawy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Izdebskiej pt. „Wpływ roślin oraz zawartych w nich związków chemicznych na wołka zbożowego *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera, Dryophthoridae)” wykonanej pod kierunkiem Pani dr hab. Małgorzaty Kłyś, prof. UKEN w Katedrze Ekologii i Ochrony Środowiska w Instytucie Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie

Owady i pajęczaki występujące w magazynowanym ziarnie zbóż i w produktach spożywczych powodują duże gospodarcze i ekonomiczne straty. Szacuje się, że na całym świecie przez te stawonogi jest niszczone aż ok. 10% magazynowanych produktów. Straty wynikające z obecności owadów, głównie chrząszczy i motyli, oraz roztoczy w magazynach sięgają ponad 100 miliardów dolarów rocznie. Trudne do określenia są społeczne i finansowe konsekwencje szkodliwego wpływu szkodników magazynowych na zdrowie ludzi i zwierząt. Fragmenty ciała chrząszczy i roztoczy magazynowych oraz ich wydzieliny i wydaliny są między innymi czynnikiem przyczynowym alergii, które obecnie są uznawane za choroby cywilizacyjne. Z powyższych względów badania nad sposobami skutecznej ochrony produktów spożywczych przed stawonogami magazynowymi i metody ograniczenia ich populacji w magazynach są bardzo aktualne i wciąż zyskują na znaczeniu na całym świecie.

Rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Izdebskiej doskonale wpisuje się w nurt zainteresowań organizacji i urzędów zajmujących się bezpieczeństwem żywności i ochroną zdrowia, w tym Organizacji Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO), Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) i Komisji Europejskiej.

Pani mgr Aleksandra Izdebska podjęła się zbadania wpływu roślinnych olejków eterycznych i wyizolowanych z nich kilku związków chemicznych na chrząszcza - wołka zbożowego (*Sitophilus granarius* L.), który jest kosmopolitycznym szkodnikiem atakującym ziarna jęczmienia, prosa perłowego, pszenicy, kukurydzy, owsa, ryżu, żyta, pszenżyta, gryki, prosa i sorga, a także kasztany, żołądzie oraz nasiona roślin bobowatych i oleistych. Ponadto *Sitophilus granarius* jest źródłem alergenów wywołujących choroby u ludzi i zwierząt. Badania te są kontynuacją zainteresowań naukowych Promotorki Pani dr hab. Małgorzaty Kłyś, prof. UKEN zaliczanej do elitarnego grona badaczy roślinnych repelentów przeciwko stawonogom magazynowym w Polsce. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że badania wykonane przez mgr Aleksandrę Izdebską nad repelencyjnym i bójczym działaniem substancji pochodzenia roślinnego na wołka zbożowego należą do nielicznych w świecie. Bardzo dobra współpraca opiekuna rozprawy i jej autorki zaowocowała interesującymi wynikami.

Rozprawa doktorska licząca 89 stron ma układ typowy dla tego typu opracowań. Składa się ona z 12 części z wyodrębnionymi podrozdziałami oraz ze spisu rycin i fotografii. Dzięki takiemu układowi dysertacja jest bardzo przejrzysta, co pozwala czytelnikowi na prześledzenie kolejnych etapów badań i ich wyników.

W rozdziałach **Wstęp** i **Cele pracy** Autorka poprzez opisanie skutków szkodliwego wpływu stawonogów magazynowych na zmiany ilościowe i jakościowe ziaren zbóż i na zdrowie konsumentów pokazała jak bardzo ważne jest znalezienie skutecznych odstraszających i bójczych substancji nietoksycznych dla innych organizmów występujących w środowisku. Autorka przedstawiła preferencje środowiskowe szkodników magazynowych i metody ich wykrywania w pomieszczeniach. Pani mgr Aleksandra Izdebska zwróciła także uwagę na roślinne substancje wykorzystywane do produkcji środków owadobójczych i repelencyjnych w świecie oraz omówiła mechanizmy toksycznego działania olejków eterycznych na magazynowe owady.

Interesujące są podrozdziały, w których mgr Aleksandra Izdebska opisuje cechy morfologiczne i biologiczne wołka zbożowego - obiektu jej naukowego zainteresowania, morfologię roślin użytych w badaniach oraz skład i właściwości olejków eterycznych izolowanych z tych roślin. W tej części pracy znajduje się 17 wysokiej jakości fotografii, w większości autorstwa Doktorantki.



**Cel pracy** jest jasno sprecyzowany. Autorka podjęła się oceny skuteczności repelencyjnego i bójczego działania olejków eterycznych i ich składników wyizolowanych z roślin powszechnie wykorzystywanych w różnych gałęziach gospodarki i w medycynie. W tej części rozprawy sformułowała także trzy hipotezy.

W rozdziale pt. „**Metodyka badań**” Autorka opisała metody wykorzystane przez nią podczas przygotowania rozprawy doktorskiej, a mianowicie sposób prowadzenia hodowli wołka zbożowego i sposób wykonania testów skuteczności repelencyjnej i/lub bójczej badanych substancji.

Utrzymanie hodowli badanego chrząszcza było niezbędne do uzyskania licznych jednowiekowych osobników. Ponadto dzięki użyciu do badań wyhodowanych okazów Autorka wykluczyła błędy wynikające z potencjalnych różnic w zachowaniu okazów wołka zbożowego w różnym fizjologicznym wieku pod wpływem roślinnych substancji i mogła porównać skuteczność repelencyjnego i/lub bójczego działania poszczególnych substancji w odniesieniu do tego chrząszcza.

Chciałbym podkreślić, że do przeprowadzenia badań Autorka wykorzystwała zestaw zaprojektowany przez Promotorkę rozprawy Panią dr hab. Małgorzatę Kłyś, prof. UKEN. Standaryzacja metody testowania działania roślinnych substancji na wołka zbożowego opartej na jednokierunkowej ich migracji bez możliwości powrotu do populacji macierzystej stanowi duży wkład Pani Promotor i jej zespołu do rozwoju badań nad zachowaniem tych stawonogów pod wpływem związków chemicznych. Zestaw użyty do doświadczeń Autorka pokazała na bardzo dobrej jakości fotografiach.

Do badań Autorka wykorzystwała substancje pozyskane z pięciu roślin, tj. kopru włoskiego *Foeniculum vulgare* Mill., kminku zwyczajnego *Carum carvi* L., czarnuszki siewnej *Nigella sativa* L. i mięty polej *Mentha pulegium* L. Były to: olejek eteryczny z kopru włoskiego i wyizolowany z niego anetol, olejek eteryczny z kminku zwyczajnego i z niego izolowane substancje L-carvon i R-(+)-limonen, olej z czarnuszki siewnej i izolowany z niego tymochinon oraz olejek eteryczny z mięty polej i izolowany z niego pulegon w stężeniach wagowych 0,025%; 0,05%; 0,1%; 0,5% i 1%. Natomiast piperiton- składnik olejku eterycznego z mięty polej, był użyty w doświadczeniach w stężeniach 0,01%; 0,025%; 0,1% i 0,05%.

Po 1, 2, 3, 4, 5, 24 i 48 godzinach doświadczeń prowadzonych w temperaturze 30°C i 60±5% wilgotności Doktorantka określała liczbę żywych i martwych chrząszczy w obydwu naczyniach wchodzących w skład zestawu. W każdej grupie doświadczeń Autorka obliczyła wskaźniki migracji i śmiertelności wołka zbożowego. Wyniki swoich badań mgr Aleksandra Izdebska przeanalizowała w oparciu o statystyczne testy.

Z zainteresowania badacza chciałabym poprosić o wyjaśnienie dlaczego Autorka prowadziła badania nad repelencyjnym i bójczym działaniem testowanych substancji na wołka zbożowego w temperaturze 30°C i w wilgotności 60±5%, a także o informację skąd pozyskała olejki eteryczne wybranych roślin i substancje ekstrahowane z tych olejków, które zostały użyte do badań.

W rozdziale pt. „**Wyniki badań**” Autorka przeprowadziła analizę licznych danych uzyskanych podczas doświadczeń z użyciem surowców roślinnych i porównała je z grupami kontrolnymi. Wartości wskaźników migracji i śmiertelności wołka zbożowego pod wpływem badanych olejków i substancji ekstrahowanych z tych olejków oraz w próbach kontrolnych Autorka przedstawiła na 30 starannie wykonanych rycinach. Graficzny sposób prezentacji wyników badań wyraźnie pokazuje dynamikę migracji i śmiertelności chrząszczy w różnym okresie po rozpoczęciu doświadczeń, tj. po 1, 2, 3, 4, 5, 24 i 48 godzinach.

Podoba mi się przedstawienie wyników w formie skondensowanej. Osiągnięcia Autorki można łatwo prześledzić dzięki logicznej prezentacji wyników badań w kilku podrozdziałach. Na ich podstawie Autorka stwierdziła, że spośród badanych olejków najlepsze właściwości odstraszające wołka zbożowego ma olejek eteryczny z kopru włoskiego i z kminku zwyczajnego. Z kolei najsilniejsze właściwości owadobójcze wobec wołka zbożowego wykazuje 1% i 0,5% olejek eteryczny z mięty polej oraz 0,5% pulegon.

Zwracam uwagę na dużą umiejętność Doktorantki prowadzenia badań doświadczalnych (hodowli wołka zbożowego i testowania działania roślinnych substancji na tego chrząszcza) i analizowania licznych danych.

W rozdziale pt. „**Dyskusja**” Pani mgr Aleksandra Izdebska omówiła wyniki własne w nawiązaniu do osiągnięć innych autorów. W pełni zgadzam się z Autorką, że porównanie wyników testów prowadzonych przez cytowanych autorów na innych



gatunkach owadów, nawet w przypadku użycia tych samych substancji, jest trudne, a w wielu przypadkach wręcz niemożliwe, ze względu na różnorodność stosowanych metod w tego typu badaniach (m.in. techniki kubka, szalek Petriego, olfaktometru, emigracji jedno- i dwukierunkowej), różnych warunków doświadczeń (m.in. temperatury, wilgotności, podłoża), różnego wieku fizjologicznego i różnej liczby owadów, innego stężenia substancji i różnic w długości prowadzonych obserwacji. Sposób prowadzenia dyskusji wskazuje na dużą dojrzałość naukową i szeroką wiedzę Autorki dotyczącą tematu jej rozprawy doktorskiej. Dyskusja po dogłębnej analizie wyników uprawnia do syntezy w postaci podsumowania i korespondujących wniosków.

W rozdziale pt. „**Wnioski**” Autorka podsumowała swoje wyniki i sformułowała wnioski końcowe, które dostarczają odpowiedzi na cele rozprawy doktorskiej.

W streszczeniu w wersji polsko- i angielskojęzycznej znajdują się wszystkie niezbędne dane o metodyce badań, wynikach i wnioskach wynikających z wykonanych doświadczeń.

**Bibliografia.** Autorka wykazała się bardzo dobrą znajomością piśmiennictwa z zakresu tematyki związanej z prowadzonymi badaniami. Literatura została bardzo dobrze dobrana i w całości dotyczy przedmiotu badań. Cytowane piśmiennictwo liczy 145 pozycji. Rozprawę doktorską poprzedza wykaz skrótów pomocny przy czytaniu tekstu, zaś kończy spis 30 rycin i 20 fotografii znajdujących się w tekście.

Do najważniejszych osiągnięć rozprawy doktorskiej o naukowym i aplikacyjnym znaczeniu zaliczam:

1. Określenie wysokiej skuteczności repelencyjnej olejków eterycznych z kopru włoskiego i z kminku zwyczajnego na wołka zbożowego, który należy do najszerzej rozpowszechnionych szkodników ziaren zbóż. Olejki te we wskazanych przez Autorkę stężeniach mogą być wykorzystane w ochronie ziarna zbóż przetrzymywanych w magazynach.
2. Określenie silnych bójczych właściwości 1% i 0,5% olejku eterycznego z mięty polej i 0,5% pulegonu wobec wołka zbożowego. W podanych stężeniach te naturalne związki chemiczne mogą znaleźć zastosowanie do ograniczenia populacji wołka zbożowego w magazynach i pomieszczeniach gospodarczych, w których są przechowywane ziarna zbóż.

3. Wykazanie, że w zależności od aplikowanej dawki olejków eterycznych i związków chemicznych z nich ekstrahowanych można uzyskać efekt odstraszania lub bójczy w odniesieniu do wołka zbożowego. Ta sama substancja może więc być wykorzystana do stworzenia produktów u o różnym zakresie działania w zależności od rynkowych potrzeb.
4. Stwierdzenie, że im niższe jest stężenie badanych substancji, tym silniejszy uzyskuje się repelencyjny efekt oraz im wyższe stosuje się stężenie substancji tym silniejszy jest efekt owadobójczy.

Wyrażam nadzieję, że badania nad działaniem roślinnych substancji na owady magazynowe będą kontynuowane w Katedrze Ekologii i Ochrony Środowiska UKEN.

**W podsumowaniu stwierdzam, że Pani mgr Aleksandra Izdebska wykonała wszystkie zaplanowane zadania i osiągnęła cele badawcze postawione w rozprawie doktorskiej. Jej wyniki dostarczają nowej wiedzy o wpływie wybranych substancji pochodzenia roślinnego na behavior wołka zbożowego i mogą być wykorzystane w praktyce do odstraszania i zwalczania tego chrząszcza w magazynach i innych pomieszczeniach, w których jest przechowywane ziarno zbóż. Autorka szczegółowo przeanalizowała olbrzymi materiał wynikający z badań i bardzo starannie go opracowała.**

**Rozprawa doktorska jest napisana w oparciu o szeroką wiedzę Doktorantki z zakresu biologii i fizjologii stawonogów magazynowych, farmakognozji, fitochemii roślin leczniczych i toksykologii.**

**Rozprawa doktorska i dorobek naukowy Pani mgr Aleksandry Izdebskiej (5 prac opublikowanych w renomowanych czasopismach i 10 rozdziałów w monografiach naukowych) świadczy o umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.**

**Wysoko oceniam rozprawę za oryginalność podjętego tematu, a jej Autorkę za dobrze opanowany warsztat badawczy i dużą wiedzę pozwalającą na analizę materiału.**

**Rozprawa doktorska mgr Aleksandry Izdebskiej pt. „Wpływ roślin oraz zawartych w nich związków chemicznych na wołka zbożowego *Sitophilus***



*granarius* L. (Coleoptera, Dryophthoridae)” spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim. W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Radzie Dyscypliny Nauki Biologiczne UKEN w Krakowie wniosek o dopuszczenie Pani mgr Aleksandry Izdebskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na wartość naukową i praktyczną recenzowanej rozprawy doktorskiej wnioskuję o przyjęcie jej z wyróżnieniem. Pani mgr Aleksandra Izdebska wykonała interesujące badania dotyczące repelencyjnego i bójczego działania na wołka zbożowego (*Sitophilus granarius*) substancji zawartych w roślinach. Na ich podstawie określiła jakie substancje i ich stężenia wykazują największą zdolność odstraszania i niszczenia tego chrząszcza. Wyniki uzyskane przez Doktorantkę z pewnością zainspirują innych autorów do dalszych badań i do przygotowania skutecznych produktów do ochrony ziarna zbóż nie tylko przed inwazją wołka zbożowego, ale też innych szkodników magazynowych.

Alicja Buczek