

Wydział Nauk Przyrodniczych

Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony środowiska

40-007 Katowice, Bankowa 9.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Stec pt. "Podatność wybranych odmian soi *Glycine max* (L.) Merr. na erowanie mszycy grochowej *Acyrtosiphon pisum* (Harris)".

Maszynopis przedłożonej do recenzji rozprawy pt. „Podatność wybranych odmian soi *Glycine max* (L.) Merr. na erowanie mszycy grochowej *Acyrtosiphon pisum* (Harris)” zawiera 74 strony tekstu, w tym 3 opublikowane już artykuły naukowe będące podstawą rozprawy. Dysertacja została podzielona na 9 rozdziałów: wprowadzenie, cel pracy, hipotezy badawcze, wykaz artykułów i artykuły wchodzące w skład rozprawy doktorskiej (rozdziały 4-7), omówienie wyników oraz wnioski. Na końcu maszynopisu zamieszczone zostały również streszczenia rozprawy w języku polskim i angielskim oraz oświadczenia współautorów artykułów o ich udziale procentowym w powstaniu publikacji.

Rozdział pierwszy wprowadza czytelnika w zagadnienia związane z uprawą soi, jej pochodzeniem, wymaganiami oraz wykorzystaniem przez człowieka. Autorka zamieściła ponadto istotne informacje o niektórych odmianach tej rośliny. Okazuje się, że w naszym kraju najbardziej odpowiednimi do uprawy soi odmiany odznaczają się dużą tolerancją na długie dni i okresem wegetacji trwającym od czterech do czterech i pół miesięcy. Wskaźnikiem jest również stała faz rozwojowych, nawet przy zmieniających się warunkach klimatycznych. Oznacza to możliwość kiełkowania, kwitnienia i zawiązywania strąków w temperaturach niższych od minimum biologicznego. Odmiany takie, wpisane są do Krajowego Rejestru lub znajdują się w Katalogu Unijnym i dopuszczono je do upraw polowych w Polsce.

Kolejny fragment tego rozdziału poświęcony został pluskwiakom (Hemiptera), które troficznie związane są z soją i stanowi istotną grupę szkodników jej upraw. Zdaniem

Doktorantki na szczególną uwagę zasługują mszyce (Hemiptera: Aphidoidea), które ze względu na masowe pojawy i znaczne fluktuacje liczebności, szczególnie mocno wpływają na plony. Jednocześnie owady te przenoszą prawie 30% znanych wirusowych patogenów roślin, co prowadzi nawet do 80% strat w plonowaniu. Tym samym mszyce znajdują się na jednym z pierwszych miejsc bezkręgowców szczególnie uciążliwych dla rolników.

Wśród mszyc w Polsce najważniejszym szkodnikiem roślin motylkowych jest mszyca grochowa - *Acyrtosiphon pisum* (Harris). Opanowanie przez tego szkodnika rośliny powoduje ogólne jej osłabienie, obniżenie turgoru, opadanie kwiatów lub karłowacenie strąków i nasion. Aby ograniczyć negatywny wpływ mszycy grochowej na uprawy używa się do siewu odmiany szybko rosnące i wczesnie kwitnące oraz stosuje się izolację przestrzenną. Niestety, środki te nie są wystarczające i dlatego najczęściej sięga się po neurotoksyczne insektycydy, co, niestety, nie pozostaje bez wpływu na środowisko: zatrąwa glebę, redukuje przypadkowe grupy zwierząt, naraża zdrowie ludzi. Wymienione negatywne skutki stosowania związków chemicznych zwróciły uwagę na ekologiczne metody ochrony roślin. Szczególnie obiecujące są prace nad zastosowaniem allelochemików, głównie substancji modyfikujących zachowanie żywieniowe owadów. Autorka wskazuje, że związki te to przede wszystkim wtórne metabolity roślinne należące do glukozydów, alkaloidów, terpenoidów i związków fenolowych. Wśród tych ostatnich szczególnie rolę odgrywają flawonoidy. Wymienione substancje charakteryzują się działaniem odstraszającym, ograniczającym erowanie (deterentnym) lub są atraktantami przywabiającymi owady. Doktorantka zwraca uwagę, że poszukiwanie ekologicznych sposobów ograniczenia liczebności szkodników skupia się na rozpoznaniu interakcji szkodników z grupą flawonoidów. Substancje te magazynowane są w wakuolach komórek roślinnych. Do tej pory opisano flawonole, flawony, glikozydy flawonoli, flawanony, flawanole, izoflawony, katechiny i antocyjanidyny. Wśród nich decyduje o naturalnej odporności roślin na erowanie owadów. Wprowadzenie tych związków w agrotechnice jako repelentów nie tylko powinno ograniczyć straty, lecz może także wpłynąć na poprawę jakości środowiska przyrodniczego.

Ostatnie fragmenty omawianego rozdziału poświęcone zostały rozważaniom nad podatnością wybranych odmian soi na erowanie mszycy grochowej. Ze względu na znaczne zawartości flawonoidów w soi Autorka postanowiła sprawdzić, jaki jest skład ilościowy i jakościowy flawonoidów w liściach oraz które związki z tej grupy charakteryzują istotne

interakcje z *Acyrtosiphum pisum*. Metod zastosowan w tych badaniach była elektroniczna rejestracja zachowania się mszyc podczas penetracji tkanek roślinnych (EPG). Technika ta, ju wcze niej stosowana i testowana przez zespół Pani prof. Beaty Gabry, jest dobrym narz dziem do rozpoznawania relacji pomi dzy mszycami i ro linami, w tym badania naturalnej odporno ci ro liny, ledzenia mechanizmów przenoszenia wirusów przez mszyce oraz wpływu zawartych w ro linach zwi zków chemicznych, o charakterze detergentów i antyfidantów na zachowanie mszyc przed i w trakcie nakłuwania tkanek roślinnych.

Omawiany powy ej rozdział w przyst pny sposób wprowadza i przybli a czytelnikowi zagadnienia naukowe, które zaprezentowano w dalszej cz ci rozprawy. Jednak nie do ko ca jest dla mnie jasna przedstawiona klasyfikacja flawonoidów. Na stronie 7 Autorka pisze, i zdefiniowano 6 klas flawonoidów. Przegl daj c pi miennictwo po wi cone temu zagadnieniu zauwa yłem, i cz sto wymienianych jest 8 klas tych zwi zków. Zabrakło tutaj glikozydów flawonoli oraz katechin. Czy zostały one wiadomie opuszczone, czy te nie stwierdzono ich w badanym materiale. Je eli tak, to jaki, wg. Autorki był tego powód?

Pewien niedosyt budzi tak e brak chocia by krótkiego omówienia pozycji taksonomicznej *Acyrtosiphon pisum*. Odbiorcy tego typu prac cz sto zainteresowani s taksonomicznym aspektem omawianego gatunku, dlatego sadz , i celowe byłoby zamieszczenie kilku zda po wi conych wspomnianemu zagadnieniu.

W wykazie pi miennictwa po wi conemu rozdziałowi drugiemu nie znalazłem pracy Pettersson i in. 2017 (zapewne pomyłony został rok i zamieszczono Pettersson i in. 2007), nie zgadza si równie rok publikacji Pickett i in. 2014 (2016?). Ponadto uwa am, e pozostawianie tak znacznych odst pów pomi dzy pozycjami pi miennictwa nie jest konieczne.

W rozdziale trzecim Doktorantka przedstawia trzy hipotezy badawcze, które maj by potwierdzone lub obalone przeprowadzonymi badaniami. Pierwsza z nich zakłada, i poszczególne odmiany soi w ró nym stopniu s podatne na erowanie mszycy grochowej. Druga wskazuje na ilo ciowe i jako ciowe ró nice w składzie flawonoidów w ró nych odmianach soi. Wreszcie trzecia przyjmuje, e flawonoidy s biologicznie aktywne i wpływaj na proces pobierania pokarmu przez *Acyrtosiphon pisum* dzi ki czemu niektóre odmiany soi s bardziej odporne na efekty erowania od innych. Postawione hipotezy były weryfikowane

w opublikowanych wcześniej opracowaniach naukowych. Strony od 20 do 63 manuskryptu zajmują publikacje, które stały się podstawą do przedstawienia osiągnięcia naukowego oraz wykorzystane do potwierdzania postawionych wcześniej hipotez.

Pierwsza praca omawia odporność soi na żerowanie mszycy grochowej oraz ilościowo i jakościowo zmienność flawonoidów w liściach odmian: „Aldana”, „Annushka”, „Augusta”, „Madlen”, „Mavka”, „Simona”, „Violetta” oraz „Viorica”. Przeprowadzone eksperymenty wykazały, iż poszczególne odmiany różniły się w ilości i proporcjach zawartych w tkankach flawonoidów, co przekładało się na różnice w czułości i czasie żerowania na nich mszyc. We wszystkich odmianach stwierdzono siedem flawonoidów: apigenin, daidzein, genistein, glicytein, izoramnetyn, kempferol i rutyn. Obecność apigeniny i genisteiny we wszystkich badanych odmianach soi prawdopodobnie czyniła je względnie nieakceptowalnymi dla *A. pisum*. Z kolei zawarty w odmianie „Aldana” kaempferol prawdopodobnie powoduje jej szczególnie wysoką odporność na żerowanie tego owada. Należy zaznaczyć, że cytowana praca opublikowana została (podobnie jak dwie pozostałe) w renomowanym, recenzowanym czasopiśmie z listy „A” MNiSZW - Scientific reports o IF= 4,379 (molecules IF = 4,411; Insects IF= 2,662)

Druga z wykorzystanych publikacji przedstawia wpływ egzogenego stosowania rutyny i kwercetyny na aktywność penetrowania tkanek roślinnych przez aparaty gębowe mszyc. Zbadano pod tym kątem *Acyrtosiphon pisum* żerującą na grochu siewnym, *Mysus persicae* na kapuście włośnicy oraz *Rhopalosiphum padi* na owsie włośnicy. Jako metod badawczy wykorzystano elektropenetografię (EPG). Przeprowadzone badania pokazały, iż analizowane flawonoidy nie wpłynęły w sposób istotny na penetrację przez mszyce tkanek roślinnych, chociaż badane gatunki mszyc wykazywały mniejszą tolerancję na rutynę niż kwercytnę. Uzyskane wyniki wykluczyły również przydatność tych metabolitów roślinnych jako czynników ograniczających transmisję wirusów. Z użytecznego punktu widzenia interesujące wydaje się stwierdzenie, iż obecność w liściach soi rutyny może ograniczać żerowanie mszycy grochowej. Autorzy badań stwierdzili ponadto, że siła efektów behawioralnych badanych flawonoli wzrasta wraz ze wzrostem stosowanych ich stężeń.

Ostatni z zamieszczonych w manuskrypcie artykułów omawia wpływ flawonoidów zawartych w liściach soi na zachowania mszycy grochowej podczas pobierania pokarmu. Autorzy pracy monitorowali aktywność penetracji sztyletu *A. pisum* na preferowanej roślinie

wycielskiej *Pisum sativum* L. nietraktowanej (kontrola) i traktowanej 0,1% etanolemowymi roztworami flawonoidów apigeniny, daidzeiny, genisteiny i kaempferolu. W tym eksperymencie również jako narzędzie badawcze wykorzystano technikę grafu penetracji elektrycznej, która wizualizuje ruchy sztyletów mszyc w tkankach roślinnych. W wyniku przeprowadzonych badań wskazano, iż genisteina nie wpływała na podatność grochu na erozowanie mszycy. W przypadku kaempferolu i apigeniny obserwowano znaczne skrócenie fazy floemowej. Z kolei daidzeina powodowała zmiany w zachowaniu mszycy podczas penetracji warstwy epidermalnej i mikroskopowego. Są to istotne informacje, które stwarzają możliwości praktycznego zastosowania w uprawach roślin. Osobiście to wymaga, moim zdaniem szczególnego podkreślenia. Wyniki badań oraz płynące z nich wnioski przedstawione w trzech zamieszczonych opracowaniach były już przedmiotem recenzji zespołów dopuszczających wymienione prace do druku, w związku z czym nie mam do nich merytorycznych i technicznych uwag, podobnie jak do ostatniego rozdziału „Wnioski”. Należy podkreślić, iż opracowania okazane jako osobiście naukowe Doktorantki są spójne i stanowią uzupełniającą się całość. Uprawniam tym samym do syntetycznego wnioskowania. Tak więc Autorka bazując na uzyskanych wcześniej wynikach potwierdza postawione przez siebie hipotezy badawcze. Za szczególnie istotne osobiście uważam potwierdzenie hipotez pierwszej i trzeciej. Wskazanie odmian soi podatnych i mało podatnych na szkody wywołane erozowaniem mszycy grochowej oraz określenie które z związków chemicznych decydujących o odporności lub jej braku ma zarówno duże znaczenie naukowe jak również stanowi podstawę do podjęcia prac aplikacyjnych, umożliwiających wykorzystanie wyników badań w praktyce agrarnej. Jednocześnie nie nasuwa się pytanie: jak mocno zaawansowane są prace wdrożeniowe nad zastosowaniem tych związków chemicznych w ochronie roślin i czy znane są Autorce gatunki innych owadów podatne na działanie flawonoidów?

Podsumowując stwierdzam, że wskazane powyżej uwagi nie wpływają w żadnym stopniu na wartość merytoryczną recenzowanej pracy. Rozprawę oceniam wysoko i stwierdzam, iż spełnia ona wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim wymienione w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz.U. z 2017 r. poz. 1789 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. „w przepisach wprowadzających ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669) a także zawartych w rozporządzeniu MNiSW z

dnia 26 września 2016r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora i wniosku o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof, dr hab. Aleksander Herczek

