



dr hab. inż. Adam Grochowalski, prof. PK

Kraków, 20 maja 2015 roku

RECENZJA

Rozprawy habilitacyjnej Pana **dr Marka Gołębiowskiego**
na podstawie cyklu publikacji p.t.:

*„Analityka kutykularnej i wewnętrznej frakcji lipidowej wybranych gatunków owadów
w poszukiwaniu związków aktywnych biologicznie”*

oraz całokształtu jego dorobku naukowego, dydaktycznego oraz organizacyjnego.

Jestem niemal zafascynowany nowatorskim pomysłem autora wykorzystania naturalnie wytwarzanych związków organicznych przez pospolite owady do poszukiwania zarówno środków do zwalczania ich samych i innych szkodliwych owadów poprzez obniżenie odporności na grzyby, pasożyty, wirusy, nicienie etc.

Poszechnie stosowanie coraz to liczniejszej grupy związków chemicznych przeciwko szkodliwym organizmom, głównie w rolnictwie jest pochodzenia antropologicznego. Znaczna liczba tych związków po pierwsze: nie działa wybiórczo, selektywnie przyczyniając się wyniszczenia również rzadkich (niejednokrotnie objętych ochroną gatunkową organizmów), a po drugie stanowi trwałe w środowisku związki, które zakłócają funkcjonowanie ekosystemów lub całej biosfery (jak kiedyś np. DDT). Dlatego uważam za celowe podjęcie w/wym. tematyki badawczej przez Pana dr Marka Gołębiowskiego

Ocena osiągnięć naukowych dr Marka Gołębiowskiego w zasadniczym obszarze jego badań

W odniesieniu do obszaru przeprowadzonych badań pragnę skomentować kilka faktów: Pomijając pospolite gatunki muchówek, szeroko rozpowszechnione nie tylko w Europie, ale rozpowszechnione w Azji i kontynentach obu Ameryk uważam, że wybranie tych gatunków muchówek było w pełni uzasadnione. Podobnie dotyczy to motyla gatunku *Dendrolimus pini*. Dziwić może fakt, że autor wybrał do badania również gatunek *Forcipomyia nigra*, który jakkolwiek jest gatunkiem europejskim to nie jest pospolity. Ciekawą alternatywą mógłby być *Bibio marci*, powszechnie spotykany wiosną. Autor nie wyjaśnia (przynajmniej nie dotarłem to takich informacji autora) dlaczego akurat wybrał ten gatunek owada do swoich badań.

Za nowość naukową uważam odkrycie przez autora faktu, że w ekstraktach uzyskanych z kutikuli i tkanek wewnętrznych zarówno stadiów preimaginalnych jak i imago związków do tej pory nie raportowanych (punkt 4.6. autoreferatu). Ciekawe jest jaką rolę mogą te związki odgrywać w procesach organicznych owadów skoro autor uważa je za nietypowe dla badanych gatunków.



Dla pojedynczych związków zidentyfikowanych we frakcjach lipidowych owadów i ich mieszanin oraz dla ekstraktów kutykularnych i wewnętrznych owadów autor wyznaczył minimalne stężenia, które hamują wzrost kolonii grzybów i bakterii zarówno gram-dodatnich i gram-ujemnych -MIC.

Autor w badaniach zastosował szczep *Conidiobolus coronatus* i w efekcie wykazał, że larwy badanych owadów są zupełnie nie odporne na ten rodzaj mikozy. W celu poznania wpływu poszczególnych związków zidentyfikowanych w ciełe badanych owadów na ich aktywność biologiczną, a w szczególności to, jaki wpływ mają te związki i ich mieszaniny na wrażliwość owadów na infekcje grzybicze i bakteryjne dr Marek Gołębiowski przeprowadził bardzo szeroki zakres badań. Przedmiotem badania były zarówno poszczególne związki, jak i ich mieszaniny oraz ekstrakty uzyskane z kutikuli i tkanki wewnętrznej owadów takie jak: kwasy tłuszczowe i ich mieszaniny, alkohole alifatyczne i ich mieszaniny, estry metylowe kwasów tłuszczowych i ich mieszaniny oraz – jak to autor określił – „związki nietypowe dla owadów”, a także ekstrakty kutykularne i z wewnętrznych frakcji lipidowych imago i stadiów preimaginalnych.

Biorąc pod uwagę badania wpływu oznaczanych związków chemicznych na odporność na infekcje grzybicze i bakteryjne ciekawi mnie, czy larwy owadów, których rozwój dokonuje się w środowisku glebowym (gdzie znajduje się duża liczba gatunków grzybów i bakterii) nie mają lepiej wyspecjalizowanych mechanizmów obronnych – wydzielając może inne związki chemiczne – przeciw tym infekcjom.

Proponowałbym autorowi tych ciekawych badań w dalszych jego pracach naukowych z tego zakresu poszukania substancji uodparniających jaja owadów na wymienione infekcje.

Jako entomolog – amator wielokrotnie hodowałem różne gatunki chrząszczy oraz błonko- i łuskoskrzydłych, gdzie zdarzało mi się doprowadzić (wskutek np. dużej wilgotności) do niekontrolowanego rozwoju pleśni na roślinach, czy w glebie gdzie znajdowały się jaja owada. Pomimo rozwoju grzybni na powierzchni skorupki jaja rozwój embrionu nie został zakłócony i otrzymywałem larwy nie wykazujące mikozy ani chorób bakteryjnych.

Może to świadczyć o występowaniu badanych przez dr Marka Gołębiowskiego związków również na powierzchni, a może i w warstwach wewnętrznych komórki jajowej.

Pragnę podkreślić wysoki poziom oznaczeń analitycznych z zastosowaniem nowoczesnych technik analitycznych w układach sprzężonych z analizatorami pozwalającymi na ustalenie bez wątpliwości budowy chemicznej badanych związków. Dla przykładu można wymienić sposób ustalania położenia wiązań podwójnych w nienasyconych kwasach tłuszczowych poprzez analizę produktu reakcji tych kwasów z disiarczkiem dimetylu.

Szeroko przeprowadzone eksperymenty naukowe – w tym głównie analizy chemiczne pozwoliły autorowi na uzyskanie olbrzymiej wręcz liczby danych. Godnym uznania jest to, że autor nie tylko podjął się interpretacji tak licznych wyników analiz, ale właściwie je zinterpretował i poddał ocenie statystycznej. Efektem tej pracy jest opracowanie w postaci szeroko dostępnej literatury naukowej o światowym obiegu w postaci artykułów przeglądowych. Autor opisał w nich zarówno skład i rolę, jaką odgrywają związki zawarte w tzw. kutykularnej frakcji lipidowej badanych gatunków owadów, ale także sposób określania wrażliwości owadów na infekcje grzybicze i bakteryjne, wyniki badania wpływu kwasów tłuszczowych na wzrost i patogeniczność entomopatogenicznych grzybów. Cennym jest to, że autor szczegółowo opisuje również stosowaną metodykę w pobieraniu materiału do badań,



przygotowanie próbek do analiz oraz same czynności analityczne dotyczące oznaczania poszczególnych grup związków chemicznych. Stosowane przez autora metody ekstrakcji to ekstrakcja do fazy stacjonarnej (SPME), analiza próbki bezpośrednio wprowadzanej (SI) chromatografia kolumnowa (jako technika preparatywna w przygotowaniu próbek i izolowaniu frakcji), klasyczna już technika wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC, cienkowarstwowej chromatografii cieczowej TLC i oraz techniki sprzężone jak GC/MS. W wielu przypadkach autor prowadził oznaczanie analitu w postaci związków pochodnych poprzez tzw. derywatyzację. Wynikało to z polarnego charakteru oznaczanych związków, a także zapewne z potrzeby obniżenia granicy oznaczalności.

Jedna z kwetii dotycząca posumowania swoich wyników badań przez autora

Nie bardzo mogę zgodzić się jednak z autorem, że wykryte przez niego związki chemiczne występujące w tkankach owadów mogą być w perspektywie wykorzystane jako insektycydy. W podsumowaniu wyników swojej pracy autor pisze: „Niniejsze osiągnięcie oprócz aspektów poznawczych z dziedziny patologii owadów może mieć w przyszłości również znaczenie praktyczne dzięki wykorzystaniu związków owadzych jako bioinsektycydy lub jako środki przeciwgrzybicze czy ewentualnie przeciwbakteryjne.”

Nie wynika to bezpośrednio z wniosków, które autor wyciągnął z wyników swojej pracy. Zapewne wiele z tych substancji ma właściwości toksyczne nie tylko dla grzybów i bakterii, ale i dla owadów. Problem jednak w tym, że wymaga to bardziej precyzyjnych badań w odniesieniu do badania jak poszczególne z tych związków (bądź ich brak) wpływają na określone funkcje organiczne owadów. A tego (przynajmniej wynika to z przedstawionej dokumentacji badawczej) autor nie rozważał.

Nota bene można zrozumieć z kontekstu powyższego stwierdzenia, że związki te będą uzyskiwane z owadów w celu ich stosowania jako bioinsektycydy. Praktycznie wszystkie zidentyfikowane i opisane przez autora związki są możliwe do wytworzenia syntetycznie lub już są otrzymywane.

W najmniejszym stopniu nie umniejsza to jednak faktu, że autor wykazał w sposób bezdyskusyjny rolę tych związków w zapobieganiu infekcji grzybiczych i bakteryjnych, co uważam za niezwykle cenne doniesienie naukowe. Co więcej, uważam, że badania te są warte kontynuowania, a uzyskane nowe wyniki badań dalszej, szerokiej dyskusji.

Ocena pozostałych osiągnięć naukowych dr Marka Gołębiowskiego

Poza głównym celem swoich badań poświęconym oznaczaniu i określeniu funkcji przeciwgrzybowych i przeciwbakteryjnych związków w kutykuli i tkance wewnętrznej badanych owadów autor przeprowadził ciekawe badania w innych obszarach jak np.:

- Przeprowadzenie analiz chemicznych oraz badanie aktywności biologicznej związków występujących w owadach.
- Badania dotyczyły także oznaczania metabolitów wtórnych entomopatogenicznych grzybów.
- Przeprowadzenie oznaczeń oraz badanie aktywności biologicznej związków pochodzenia roślinnego. Jednakże w opisie tej aktywności autor nie podaje informacji, czy badania te dotyczyły wpływu otrzymanych substancji pochodzenia roślinnego na aktywność chorób grzybiczych i bakteryjnych u badanych owadów.



- Wartym podkreślenia jest poszukiwanie związków pochodzenia roślinnego do zwalczania np. stonki ziemniaczanej. Autor wspomina o swojej aktywności w tym zakresie w badaniu wosków wytwarzanych przez ziemniaka.
- Oznaczanie aktywnych przeciwgrzybiczo i przeciwbakteryjnie związków w nicieniach, tkance dorsza oraz wybranych gatunkach krewetki bałtyckiej.

Nieco zaskakujące, może wydawać się, że autor podjął również w swojej aktywności naukowej odmienne od głównej tematyki badawczej badania w zakresie: opracowania metody oznaczania lotnych kwasów tłuszczowych w wodzie powierzchniowej, badania mechanizmów sorpcji cieczy jonowych, zastosowania TMSD do otrzymywania pochodnych niektórych leków przeciwzapalnych, oznaczania produktów rozkładu wybranych cieczy jonowych w procesach oczyszczania ścieków, a także oznaczania związków perfluorowanych takich jak perfluorowane kwasy karboksylowe.

Ciekawe badania dotyczyły również badań w zakresie ustalania struktur wybranych układów polisacharydowych – w tym struktury chemicznej produktów degradacji O-polisacharydów przez rodzaj *Salmonella*. Ciekawie brzmi również badanie składu chemicznego historycznych materiałów artystycznych z Muzeum Narodowego w Krakowie oraz oznaczanie zawartości polonu w tytoniu uprawianym w naszym kraju.

Bardzo pozytywnie oceniam te badania.

Kilka uwag do autoreferatu

W autoreferacie autor niekiedy stosuje żargon lub slang. Wynika to zapewne z rutyny i komunikacji werbalnej w prowadzonych badaniach – co jest powszechne w pracach laboratoryjnych, ale w publikacjach nie powinno się pojawiać. Przykładem może być opisywanie tzw. „kwasów wewnętrznych” zamiast kwasów występujących w tkance wewnętrznej owada, a także np. określenie lipidów z tych tkanek jako: „wewnętrznych frakcji lipidowych”. Nie powinno też być napisane: „w analizowanych gatunkach owadów” „związków pochodzenia owadziego”, „biologiczne metody kontrolowania szkodliwych owadów” itd.

„Identyfikacja nietypowych dla owadów związków jest bardzo ważnym zadaniem naukowym, ponieważ może dostarczyć „nowych” związków wykazujących aktywność biologiczną...” Identyfikacja niczego nie dostarczy. Natomiast może pomóc w zrozumieniu ich roli w fizjologii badanych gatunków owadów i spełnić cel autora, czyli pomóc w wykryciu tych spośród oznaczonych związków, które będą miały właściwości przeciwgrzybicze i/lub pomogą zapobiegać wirozom i bakteriozom.

W niektórych miejscach autor pisze niestarannie: (str. 29) „Niewielkie ilości fenylopropionowego zidentyfikowano na powierzchni kutykuli larw i śladowe ilości w wewnętrznych frakcjach lipidowych”.

Mylone jest pojęcie *analiza* i *oznaczanie*. Analizuje się próbki, a związki chemiczne oznacza. Dla przykładu autor napisał (str. 43 autoreferatu i inne) „...w analizie związków pochodzenia owadziego...”, „...analizy metabolitów wtórnych entomopatogenicznych grzybów”, „analiza kutykularnych wosków bakłażana” itd.

Proponuję autorowi, aby zwrócił uwagę w dalszym publikowaniu uzyskanych, bardzo cennych wyników badań na staranność w redagowaniu tekstu i stosowaniu precyzyjnych, jednoznacznych określeń w tekście o charakterze naukowym.



Ocena aktywności organizacyjnej

Od 2013 roku dr Marek Gołębiowski jest członkiem komitetu redakcyjnego (Editorial Board) czasopisma *Advances in Materials Science and Applications* i od tego samego roku członkiem komitetu redakcyjnego (Senior Editorial Board) czasopisma *American Journal of Current Biology*.

Od 2009 roku jest członkiem Gdańskiego Towarzystwa Naukowego.

Habilitant jest recenzentem 23 publikacji naukowych o cyrkulacji międzynarodowej.

Staż naukowy zagranicą

W okresie od 3.11.2012 – 28.10.2013 przebywał na rocznym stażu naukowym w Interdisciplinary Center for Nanotoxicity, Jackson State University, USA

Ocena pracy dydaktycznej

Dr Marek Gołębiowski jest współautorem elektronicznego skryptu p.t: „Analiza żywności”, skierowanego dla studentów Ochrony Środowiska Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego.

Prowadzi liczne wykłady i kursy jak np.: Metody walidacji, Ekologia biochemiczna, Wtórne metabolity roślin, Elementy wiedzy o ochronie środowiska i inne, a także liczne, specjalistyczne laboratoria dydaktyczne o charakterze analitycznym.

Prowadzi również zajęcia pozakursowe, takie jak: Międzywydziałowe Studia Podyplomowe „Współczesne metody analityki z elementami diagnostyki molekularnej” Analiza śladowa - wykłady.

Dr Marek Gołębiowski uczestniczy w Programie Operacyjnym: Kapitał Ludzki. Kosmiczna Edukacja. Rozwój wykształcenia i kompetencji w regionach. 9.1. Wyrównywanie szans edukacyjnych i zapewnienie wysokiej jakości usług edukacyjnych świadczonych w systemie oświaty. 9.1.2 Wyrównywanie szans edukacyjnych

Ponadto był opiekunem jedenastu studentów i lekarzy w toku specjalizacji.

Podsumowanie dorobku naukowego dr Marka Gołębiowskiego

Pan dr Marek Gołębiowski jest głównym autorem szesnastu publikacji naukowych ściśle związanych z tematem jego rozprawy habilitacyjnej. Wszystkie publikacje są w języku angielskim i ukazały się w czasopismach naukowych o cyrkulacji międzynarodowej.

Sumaryczny impact factor tych publikacji wynosi 38,816 co uważam za imponujący wynik. Należy podkreślić, że cytowane publikacje prezentują wysoki poziom naukowy w zakresie nowych doniesień w zakresie analiz chemicznych dotyczących oznaczania dużej liczby związków występujących w kutykuli oraz tkance wewnętrznej owadów, w tym głównie w ich formach preimaginalnych.

Pozostałe publikacje autora w liczbie 33 opublikowane w okresie od 2007 do 2014 roku po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych również zasługują na uznanie w odniesieniu do poziomu naukowego prezentowanego w nich dorobku naukowego autora.

Dorobek naukowy dr Marka Gołębiowskiego jest znaczący i w odniesieniu do parametrów naukowych wynosi:



Impact factor (nie wliczając publikacji z lat 2014 i 2015): 98,580

W tym w odniesieniu do publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe w zakresie prezentowanej rozprawy habilitacyjnej: 38,816

Liczba cytowań publikacji (wg Web of Science) – bez autocytowań wynosi 281, w tym w odniesieniu do omawianej tematyki z obszaru rozprawy habilitacyjnej wynosi: 101.

Indeks Hirscha obliczony na podstawie liczby cytowań autora wynosi: 13

Wszystkie publikacje naukowe autora – zarówno ściśle doniesienia nowości naukowych przez niego uzyskane – jak i prace przeglądowe są starannie przygotowane i wyczerpująco traktujące omawiane kwestie, ale godnym podkreślenia jest fakt bogato ilustrowanych wyników badań i ich interpretacja. Pragnę również podkreślić to, że autor szczegółowo opisał swoje eksperymenty z podaniem parametrów analitycznych, co umożliwi innym badaczom przeprowadzenie podobnych eksperymentów celem poszukiwania oznaczanych przez habilitanta związków w organizmach innych gatunków owadów, u pajęczaków i innych gromad.

Pozwala to recenzentowi na rzetelną ocenę uzyskanych przez autora wyników badań.

Dlatego bardzo wysoko oceniam sposób komunikacji autora z czytelnikiem i formę prezentowania swoich wyników badań.

Autor był kierownikiem, lub głównym wykonawcą sześciu projektów naukowo-badawczych, między innymi w efekcie których powstał jego dorobek naukowy.

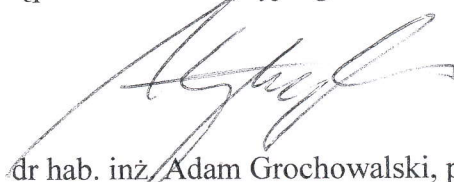
Wyniki swoich badań prezentował na licznych konferencjach naukowych w kraju i zagranicą. Spis tych doniesień do blisko sto referatów. Uważam to za znaczący dorobek nie tylko naukowy, ale i polularyzatorski, co pragnę wysoko ocenić.

Dr Marek Gołębiowski otrzymał za swoje badania w latach 2008 – 2013 sześć prestiżowych nagród od Rektora Uniwersytetu Gdańskiego.

Wszystko to świadczy to o naturze poznawczej Pana dr Marka Gołębiowskiego i może imponować w zakresie podjęcia przez niego dużego zakresu badań analitycznych i stosowania licznych, nowoczesnych technik instrumentalnych. W moim przekonaniu Pan dr Marek Gołębiowski jest już uznanym naukowcem o wyspecjalizowanym profilu badawczym i mającym bogaty dorobek naukowy.

Biorąc pod uwagę całokształt dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego, a szczególnie duże zaangażowanie dr Marka Gołębiowskiego w badania w zakresie oznaczania związków chemicznych mogących mieć praktyczne zastosowanie w kontrolowaniu rozwoju szkodliwych gatunków owadów moja ocena wniosku o nadanie mu stopnia doktora habilitowanego jest pozytywna.

Wniosuję zatem do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Pana dr Marka Gołębiowskiego do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.


dr hab. inż. Adam Grochowalski, prof. PK