

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr Marty Wojciechowskiej

pt.: *„Wpływ środków ochrony roślin na chemiczny skład związków kutykularnych i wewnętrznych wybranych gatunków owadów”*

wykonanej w Katedrze Analizy Środowiska Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego
pod kierunkiem dr. hab. Marka Gołębiowskiego, prof. UG

Ocena wpływu substancji czynnych środków ochrony roślin na owady pożyteczne i szkodniki z coraz większą częstością znajduje się w centrum zainteresowania naukowców. Ciągłe stosowanie insektycydów wymusza konieczność śledzenia w środowisku zmian wywoływanych tymi związkami. Środki ochrony roślin, głównie pestycydy, równoległe do swojej ochronnej roli wobec produkcji roślinnej, mogą przyczyniać się m.in. do zmniejszenia populacji owadów pożytecznych, do rozwoju chorób u ludzi, zanieczyszczają ekosystem. Monitorowanie w owadach zmian spowodowanych stosowaniem insektycydów może być pomocne w ocenie stopnia zanieczyszczenia środowiska, może przyczynić się do lepszego śledzenia narastającej odporności owadów na środki owadobójcze, czy do tworzenia korzystniejszych dla środowiska planów stosowania insektycydów. Z tych powodów rozprawa doktorska Pani mgr Marty Wojciechowskiej wpisuje się w bardzo aktualny i rosnący trend badawczy, związany z ochroną środowiska.

Praca doktorska Pani mgr Marty Wojciechowskiej należy do prac o układzie tradycyjnym. Jest to monografia składająca się z części teoretycznej/literaturowej, celu pracy, części doświadczalnej, wyników i dyskusji oraz wniosków. Praca zawiera bardzo bogaty spis bibliograficzny w ilości 292 przypisów oraz imponującą dokumentację w postaci 81 tabel i 213 rycin. Doktorantka zamieściła również praktyczny wykaz skrótów oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Całość zawarta jest na 284 stronach, bez wliczania stron poświęconych wykazowi piśmiennictwa i sumarycznemu dorobkowi naukowemu Doktorantki. Wybrana

forma monografii pozwala na lepszy ogłęd prezentowanych wyników pracy z uwzględnieniem metodologii badań, jednocześnie odzwierciedlając nakład włożonej pracy oraz sumienne przygotowanie mgr Marty Wojciechowskiej do badań naukowych.

W **części literaturowej** Autorka opisała budowę ciała owadów, a w szczególności pokrycie ciała i ciało tłuszczowe owadów, czyli elementy poddawane badaniom w dysertacji. Doktorantka przybliżyła w niej budowę, podstawowy skład i funkcje badanych części owadów. Wyczerpująco scharakteryzowała także zjawisko odporności owadów zarówno na mikroorganizmy patogenne jak też na insektycydy. Prawidłowo wskazała czynniki wewnętrzne i zewnętrzne mające wpływ na odporność owadów na środki ochrony roślin. W tej części dysertacji Doktorantka w ciekawy sposób przybliżyła trzy gatunki owadów, które zostały wybrane do badań, czyli dwa chrząszcze: mącznik młynarek (*Tenebrio molitor*) i stonka ziemniaczana (*Leptinotarsa decemlineata*) oraz mol woskowy (*Galleria mellonella*) – owad z rzędu motyli. Kolejny rozdział poświęcony został środkom owadobójczym, z dokładniejszym opisem grup insektycydów zastosowanych w pracy. Część literaturową zamykają rozdziały o technikach analitycznych wykorzystywanych w pracy doktorskiej oraz o sposobie identyfikacji wybranych związków organicznych na podstawie widm mas otrzymanych w trakcie analizy za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Szczególnie ostatnia część tego rozdziału stanowi solidne kompendium dla osób starających się głębiej poznać tę technikę analityczną.

Cel pracy doktorskiej obejmował badanie wpływu zastosowanych insektycydów na skład związków ekstrahowanych z ciała tłuszczowego owadów, związków kutykularnych oraz związków lotnych. Doktorantka prawidłowo dobrała zaawansowane techniki analityczne służące do ekstrakcji oraz analizy związków zawartych w owadach, umożliwiające ocenę jakościową i ilościową składu wybranego materiału biologicznego. Tak postawiony cel pracy wymagał dużego zaangażowania Doktorantki w planowanie badań i skrupulatne ich przeprowadzenie. W **części eksperymentalnej** Doktorantka wyczerpująco opisała metodykę badawczą użytą do przeprowadzenia badań eksperymentalnych. Nie brakuje starannego wykazu odczynników i materiałów wykorzystanych w pracy, jak też szczegółów związanych z użytą w badaniach aparaturą. Duży szacunek budzi wyjściowy spis próbek na bazie larw, samic

i samców badanych gatunków owadów, które poddane zostały odpowiedniemu przygotowaniu i analizie. Ostatecznie próbki zostały podzielone w zależności od badanych związków i materiału biologicznego (ciało tłuszczowe, związki kutykularne, związki lotne), od stadium rozwoju (larwy oraz osobniki dorosłe), podziału w zależności od płci owada, od rodzaju zastosowanego insektycydu i ostatecznie od czasu, który upłynął od oprysku. I tak zgodnie z powyższymi podziałami wszystkie rodzaje próbek zostały ujęte na 9 stronach dysertacji. Oddaje to ogrom wykonanej pracy, wskazuje na wiele godzin spędzonych w laboratorium, ujawnia pracowitość, zdyscyplinowanie i determinację Doktorantki do osiągnięcia założonego celu. **Wyniki i dyskusja** zawarte zostały na 215 stronach pracy doktorskiej z bogatą dokumentacją faktograficzną w postaci tabel i wykresów. Do analizy otrzymanych wyników chromatograficznych Doktorantka posłużyła się podstawowymi i zaawansowanymi metodami statystycznymi, m.in. analizą głównych składowych jak i wizualizacją wyników w postaci map ciepła, ułatwiającą interpretację danych. Zwięzłe **Wnioski** wskazują na umiejętność Doktorantki formułowania dokonań pracy badawczej w sposób klarowny i komunikatywny.

Warto z uznaniem podkreślić, że część literaturowa i część doświadczalna przedłożonej do recenzji pracy doktorskiej dowodzi świetnego opanowania przez mgr Martę Wojciechowską złożonych i czasochłonnych technik ekstrakcji i analizy związków z materiału biologicznego, w tym mikroekstrakcji do fazy stałej oraz techniki chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas, również z zastosowaniem analizy typu *headspace*. Wszystkie wymienione techniki wymagają bardzo solidnego przygotowania zarówno od strony teoretycznej jak i praktycznej. Lektura przedłożonej pracy pozwala stwierdzić, że mgr Marta Wojciechowska opanowała wymienione zaawansowane techniki analityczne w stopniu nader zadowalającym, co udowodniła prezentacją wyników pracy. Ponadto, warto zauważyć, że dysertacja prezentuje wysoki poziom poprawności językowej, jedynie znalazło się kilka nieścisłości (np. atropina jest antagonistą receptorowym a nie agonistą) i drobnych uwag edytorskich.

Wśród **najważniejszych osiągnięć** pracy doktorskiej Pani mgr Marty Wojciechowskiej, równocześnie stanowiących element nowości naukowej, należy wymienić:

- określenie składu związków wewnętrznych, związków kutykularnych oraz związków lotnych zawartych w badanych gatunkach owadów, z podziałem na stadium rozwoju i płeć owadów, oraz na grupy przed i po zastosowaniu insektycydów,
- wskazanie związków, które różnicują owady przed i po oprysku insektycydami, co z kolei będzie miało wpływ na poszukiwanie nowych i bardziej skutecznych środków owadobójczych oraz może przyczynić się do udoskonalenia metod monitoringu środowiskowego,
- możliwość zastosowania proponowanych, zwalidowanych metod analitycznych do badania jakościowego i ilościowego składu innych gatunków owadów.

Lektura przedstawionej dysertacji oraz obowiązek recenzencki wymaga zadania kilku pytań. Wobec tego chciałam prosić o odniesienie się do następujących uwag.

1. W części metodycznej pracy zostały przedstawione parametry różnych metod ekstrakcyjnych, w zależności od badanego materiału z owadów. Ponieważ w tej części pracy nie znalazłam odniesień literaturowych, prosiłabym o informację na temat optymalizacji tych metod. Prośba dotyczy też przytoczonej metody chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas.

2. Czy były podjęte próby analizy ilościowej związków z wykorzystaniem wzorca wewnętrznego? Co prawda był stosowany kwas 19-metyloarachidowy, przy czym dodawany był dopiero na etapie derywatyzacji związków, koniecznej do analizy średniolotnych i nielotnych związków. Czy były brane pod uwagę również inne związki jako wzorce wewnętrzne, biorąc pod uwagę różnorodność chemiczną oznaczanych ilościowo związków?

3. Zgodnie z opisem w pracy, do wyznaczenia parametrów walidacyjnych wykorzystano ciała tłuszczowe owadów, które fortyfikowano odpowiednimi stężeniami wzorców. Czy w zastosowanej matrycy wyjściowo oznaczono jakościowo lub ilościowo badane związki?

4. Praca jest wyjątkowo obszerna, jak na opracowania tego typu, ale mimo wszystko w części eksperymentalnej moim zdaniem zabrakło przykładowych chromatogramów zarówno z etapu walidacyjnego jak i z oznaczanych próbek.

5. W przypadku gatunku mola woskowego (*Galleria mellonella*) zastosowany został bioinsektycyd zawierający bakterie *Bacillus thuringiensis*. Czy badany był może skład bakterii pod kątem obecności związków oznaczanych w owadzie?

6. Dość często w rozdziale „Wyniki i dyskusja” pojawia się zwrot „brak związku w próbce”. Czy bardziej precyzyjnej określeniem nie byłoby np. „poniżej LOD” albo „nie zidentyfikowano”?

Wymienione wyżej pytania są jedynie podstawą do dyskusji i nie obniżają wysokiej, pozytywnej oceny rozprawy doktorskiej autorstwa mgr Marty Wojciechowskiej, dysertacji, która stanowi opracowanie wartościowe zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia.

Należy dodatkowo nadmienić, że Pani mgr Marta Wojciechowska ma pokaźny dorobek naukowy, o którym nie można nie wspomnieć przy okazji recenzji pracy doktorskiej. Jest pierwszym autorem 5 prac związanych z tematem dysertacji, z czego cztery prace zaliczane są do prac eksperymentalnych a jedna do przeglądowych. Artykuły te ukazały się w bazie *Journal Citation Reports* w znanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, takich jak *Chemistry and Biodiversity*, *Biomedical Chromatography*, *Phytoparasitica*, *Invertebrate Survival Journal*. Praca przeglądowa, będąca pierwszą pracą z tego zbioru, posiada wysoką liczbę cytowań w bazie Scopus, wynosząca 30. Doktorantka była również kierownikiem 4 projektów Badań Młodych Naukowców. W toku realizacji doktoratu prowadziła także badania niezwiązane bezpośrednio z tematem pracy, co zaowocowało kolejną publikacją w uznanym czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Ponadto, prezentowała wyniki badań jako wystąpienia ustne i posterowe. Przytoczony dorobek naukowy pozwala stwierdzić, że Doktorantka w toku realizacji pracy doktorskiej nabrała zadowalających umiejętności publikacji i prezentacji danych naukowych oraz zdobywania środków finansowych na prowadzenie badań.

Rozprawa doktorska ma prezentować ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, zaś jej przedmiotem jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Biorąc pod uwagę wszystkie elementy oceny prac doktorskich stwierdzam, że praca doktorska zatytułowana „Wpływ środków ochrony roślin na chemiczny skład związków kutykularnych i wewnętrznych wybranych gatunków owadów” spełnia wymagania ustawowe i w pełni odpowiada warunkom formalnym i merytorycznym stawianym rozprawom doktorskim. Wobec tego wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr Marty Wojciechowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Gdańsk, 6 listopada 2024 r.

p.o. KIEROWNIK KATEDRY
Biofarmacji i Farmakodynamiki

dr hab. Danuta Siluk, prof. uczelni