

Prof. dr hab. Mieczysława Irena Boguś
Muzeum i Instytut Zoologii PAN
Warszawa

**OCENA
PRACY DOKTORSKIEJ**

mgr Magdaleny Joanny Winkiel

**pt.: „Charakterystyka działania wybranych glikoalkaloidów z rodziny *Solanaceae* na
kluczowe procesy metaboliczne u chrząszcza *Tenebrio molitor*”**

Straty gospodarcze powodowane przez owady oraz zagrożenie zdrowia ludzi i zwierząt hodowlanych ze strony patogenów przenoszonych przez owady, zmuszają do ograniczania liczebności populacji owadów szkodliwych. Klasyczne insektycydy, choć tanie i skuteczne, z racji nieselektywnego działania stanowią zagrożenie dla zachowania bioróżnorodności. Ponadto rosnąca oporność szkodników na insektycydy skłania do poszukiwania nowych rozwiązań w celu opracowania wydajnych preparatów owadobójczych działających selektywnie oraz bezpiecznych dla środowiska naturalnego. Badania nad stosowaniem naturalnych wrogów owadów w postaci wirusów, bakterii, grzybów i nicieni jako bioinsektycydów, zaowocowały powstaniem preparatów komercyjnych, jednak ich skuteczność i selektywność nadal nie jest zadawalająca. Alternatywnym podejściem do tego problemu są badania nad możliwością zastosowania naturalnych substancji roślinnych. Rośliny w toku ewolucji, pod presją zagrożeń ze strony zarówno patogennych mikroorganizmów jak i licznych roślinożerców, wytworzyły bogaty arsenał substancji biologicznie aktywnych mogących zabezpieczać je przed owadami. Substancje pochodzenia roślinnego są łatwo biodegradowane a także działają w sposób selektywny wobec określonych organizmów. Na szczególną uwagę zasługują glikoalkaloidy obecne w roślinach psiankowatych, które wykorzystują je do ochrony przed patogenami i organizmami roślinożernymi. Jednak mechanizm działania glikoalkaloidów na owady szkodliwe jest słabo poznany. Dlatego podjęcie przez Doktorantkę badań mających na celu określenie wpływu wybranych glikoalkaloidów: solaniny, chakoniny, tomatyny oraz ekstraktu z liści pomidora,

na kluczowe procesy metaboliczne chrząszcza mącznika młynarka *Tenebrio molitor* było w pełni uzasadnione.

Prezentowana rozprawa wnosi nowe, ważne informacje dotyczące zagadnień kluczowych dla poznania mechanizmu oddziaływania badanych glikoalkaloidów na metabolizm owadów. Doktorantka skoncentrowała się na następujących zagadnieniach:

- dystrybucja glikoalkaloidów aplikowanych larwom *T. molitor* w ich tkankach,
- oddziaływanie testowanych substancji na poziom substratów energetycznych (lipidów, węglowodanów i aminokwasów) w owadzich tkankach,
- wpływ badanych substancji na zmiany poziomu ekspresji genów kodujących kluczowe enzymy szlaków metabolicznych: glikolizy (fosfofruktokinaza), cyklu Krebsa (syntaza cytrynianowa) i β -oksydacji kwasów tłuszczowych (dehydrogenaza hydroksyacylo-CoA) oraz na aktywność tych enzymów,
- wpływ badanych substancji na aktywność enzymów antyoksydacyjnych (dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza) oraz zmiany poziomu ekspresji genów kodujących te enzymy a także genu kodującego białko szoku cieplnego (HSP70).

Zaprezentowane badania, stanowiące logiczną całość, zostały bardzo dobrze zaprojektowane i starannie wykonane przy użyciu nowoczesnych technik.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że jedna praca, wchodząca w skład rozprawy doktorskiej, została już opublikowana w wysoko punktowanym czasopiśmie *Metabolites* o IF równym 4.1 a pozostałe 3 prace są na etapie recenzji w renomowanych czasopismach: *Scientific Reports*, *Insect Science* i *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Wszystkie prace wchodzące w skład rozprawy są ze sobą ściśle powiązane tematycznie. W każdej z tych prac mgr Magdalena J. Winkiel jest pierwszym oraz korespondencyjnym autorem. W rozprawie prace te poprzedzone są bardzo zwięzłym wstępem (3 strony), dobrze sformułowanym celem badań, wymienieniem użytych w badaniach materiałów i zastosowanych metod (1 strona), krótkim omówieniem wyników z elementami dyskusji (3 strony) a także podsumowaniem (1/2 strony), bibliografią (26 pozycji) i streszczeniem w języku polskim i angielskim. W rozprawie doktorskiej umieszczone zostały ponadto oświadczenia współautorów każdej z prac wchodzących w skład rozprawy określające indywidualny wkład każdego z nich.

Na szczególne podkreślenie zasługuje pokaźny dorobek naukowy Doktorantki w skład, którego, oprócz opublikowanej pracy umieszczonej w rozprawie, wchodzi 5 publikacji, wszystkie z bazy Journal Citation Reports o łącznym współczynniku IF równym 26,3 oraz łącznej ilości punktów MEiN równej 640. Jest to bardzo dobry wynik, zwłaszcza w przypadku doktorantów. W jednej z tych prac, niewchodzących w skład rozprawy, Doktorantka była pierwszym autorem.

Badania przeprowadzone przez Doktorantkę zostały sfinansowane przez indywidualny minigrant dla doktorantów w ramach projektu „Inicjatywa doskonałości Uczelnia badawcza” a także przez grant Doktoranta w ramach projektu „Uniwersytet Jutra”.

Oceniając rozprawę przedstawioną mi do recenzji stwierdzam, iż:

- rozprawa została napisana w sposób przejrzysty, zwięzły i zrozumiały,
- szata graficzna rozprawy jest staranna, choć niektóre wykresy są tak pomniejszone, że oznaczenia na osiach stały się trudne do odczytania,
- bardzo zwięzły wstęp, stanowiący teoretyczne wprowadzenie do zagadnień będących przedmiotem badań Autorki, został zrównoważony bardziej rozbudowanymi wstępami do każdej z kolejnych prac,
- zadania jakie postawiła sobie Doktorantka są jasno sformułowane,
- metody użyte w badaniach (szczegółowo opisane w poszczególnych pracach) zostały dobrane w sposób właściwy,
- w dyskusjach poszczególnych prac Autorka umiejętnie i w sposób rzeczowy konfrontuje uzyskane wyniki z danymi dostępnymi w literaturze fachowej,
- piśmiennictwo cytowane w poszczególnych pracach jest właściwie dobrane i obejmuje aktualną wiedzę dotyczącą poruszanych zagadnień.

W trakcie analizy rozprawy zauważyłam, że pewne jej fragmenty wymagają drobnych korekt:

1. W każdej z prac umieszczonych w rozprawie, również w pracy już opublikowanej, w opisie zastosowanych metod podana jest informacja o wirowaniu próbek z podaniem ilości „rpm” (obrotów na minutę) ale bez podania wartości „g”, która jest uzależniona od promienia rotora wirówki oraz prędkości obrotowej i stanowi wielokrotność przyspieszenia ziemskiego. Bez szczegółowej informacji o rodzaju wirówki i użytego rotora nie jest możliwe odtworzenie opisanych przez Doktorantkę warunków wirowania.

2. W pracy nr 2 w wierszach 278 – 279 jest podana informacja, że próbki oznaczone symbolem FB głównie składały się z ciała tłuszczowego i cewek Malpighiego natomiast w wierszach 344 – 345 jest informacja, że próbki te składały się głównie z ciała tłuszczowego, już bez cewek. Z kolei w opisach pod rycinami (Fig.1 wiersz 487 i Fig. 2 wiersz 493) symbolem FB oznaczono „pozostałą część larw”. Co należy rozumieć pod pojęciem „pozostała część larw”? Czy znajdowały się tam również oskórek, mięśnie, układ nerwowy i pozostałe narządy wewnętrzne larw?

Ponieważ symbolem FB z reguły oznaczane jest wyłącznie ciało tłuszczowe (ang. fat body), proponuję aby „pozostała część larw” oznaczona była symbolem RPL (ang. remaining part of the larvae) oraz aby towarzyszyła temu informacja jakie narządy i tkanki to określenie obejmuje. Zapobiegnie to nieporozumieniom.

3. W pracy nr 2 pod rycinami 5 i 6 brak wyjaśnienia co oznaczają małe litery a, b, c.

4. W pracy nr 3 w objaśnieniach ryciny 1 (wiersze 280 – 281) a także w tekście (wiersze 288 - 289) znajduje się informacja, że oznaczano poziom trehalozy, glukozy i glikogenu w ciele tłuszczowym i hemolimfie *T. molitor*. Z ryciny 1 wynika jednak, że jedynie trehaloza oznaczana była zarówno w ciele tłuszczowym jak i w hemolimfie, natomiast poziomy glukozy i glikogenu mierzono wyłącznie w ciele tłuszczowym.

Z kolei rycina 2 jest tak pomniejszona, że odczytanie oznaczeń na osiach jest niezwykle trudne w papierowej wersji rozprawy (a tylko taka wersja została dostarczona do zrecenzowania).

5. W oświadczeniach przydałaby się informacja określająca procentowy udział każdego ze współautorów w poszczególnych pracach, które weszły w skład rozprawy. Nie wszystkie bowiem przeprowadzone badania cechuje podobny poziom pracowitości, niezbędnych umiejętności i merytorycznego przygotowania wykonawcy.

Powyższe uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej dysertacji, którą oceniam bardzo wysoko. Autorka w przedstawionej rozprawie doktorskiej wykazała umiejętność rozwiązywania postawionych zadań naukowych, dobre opanowanie większości metod badawczych zastosowanych w pracach wchodzących w skład rozprawy oraz znajomość piśmiennictwa. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki stanowią Jej oryginalne osiągnięcia i znacząco poszerzają wiedzę na temat istotnych aspektów oddziaływania wybranych glikoalkaloidów na aktywność białek enzymatycznych zaangażowanych w kluczowe procesy metaboliczne larw *T. molitor* oraz na poziom ekspresji genów kodujących te białka.

Stwierdzam, że przekazana mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Magdaleny Joanny Winkiel pt.: „Charakterystyka działania wybranych glikoalkaloidów z rodziny *Solanaceae* na kluczowe procesy metaboliczne u chrząszcza *Tenebrio molitor*” w pełni odpowiada wymaganiom określonym w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym i wnioskuję o dopuszczenie Autorki tej rozprawy do dalszych, przewidzianych ustawą, etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuję jednocześnie o wyróżnienie nagrodą Autorki powyższej rozprawy doktorskiej.

Warszawa, 5.07.2024


Prof. dr hab. Mieczysława Irena Boguś