



dr hab. Mirosław Nakonieczny, prof. UŚ
miroslaw.nakonieczny@us.edu.pl

Katowice, 11.01.2021.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marty Spochacz

„Działanie ekstraktu z *Solanum nigrum* L. i jego głównych glikoalkaloidów, jako czynników zwiększających toksyczność insektycydu fenitrotonu w wybranych tkankach *Tenebrio molitor* L.”

Przedstawiony do recenzji manuskrypt rozprawy doktorskiej mgr **Marty Spochacz** składa się z dwu zasadniczych części. Pierwsza z nich to krótkie półtorastronicowe „Streszczenie” w języku polskim i angielskim oraz „Wprowadzenie”, które to są w pełni autorskimi rozdziałami doktorantki. Natomiast część druga składa się z trzech podrozdziałów, które są kopiami opublikowanych już artykułów naukowych, których doktorantka jest współautorką. We wszystkich trzech przypadkach mgr Marta Spochacz jest pierwszym autorem z rolą autora korespondencyjnego. Ponadto, obok spisu treści, dostarczony do recenzji manuskrypt zawiera podziękowania oraz oświadczenia współautorów o ich udziale w pracach badawczych i wkładzie w opublikowanie będących częścią rozprawy doktorskiej artykułów naukowych. A są to:

1. Spochacz M., Chowański S., Walkowiak-Nowicka K., Szymczak M., Adamski Z. (2018) Plant-derived substances used against beetles – pests of stored crops and food – and their mode of action: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17: 1339-1366.
2. Spochacz M., Chowański S., Szymczak M., Lelario F., Bufo S.A., Adamski Z (2018) Sublethal effects of *Solanum nigrum* fruit extract and its pure glycoalkaloids on the physiology of *Tenebrio molitor* (mealworm). *Toxins* 108: 504; doi: 10.3390/toxins10120504.
3. Spochacz M., Szymczak M., Chowański S., Bufo S.A., Adamski Z (2020) *Solanum nigrum* fruit extract increases toxicity of fenitrothion – a synthetic insecticide, in the mealworm beetle *Tenebrio molitor* larvae. *Toxins* 12: 612; doi: 10.3390/toxins12100612.

Wyżej wymienione publikacje są zasadniczym elementem przedłożonej Radzie Wydziału recenzji. Zamieszczone w manuskrypcie publikacje są wiernymi kopiami artykułów opublikowanych w wymienionych czasopismach naukowych.

Przedstawiony do oceny manuskrypt rozprawy doktorskiej został zawarty przez doktorantkę na 112 stronach. W przedłożonym manuskrypcie istotnym jego elementem są oświadczenia współautorów, które pozwalają na określenie ich udziału w pracach eksperymentalnych i wkładu



w opublikowanie wymienionych tytułów. W przypadku artykułów opublikowanych w *Toxins* mają one potwierdzenie w samych publikacjach, w akapicie „Author Contributions”, które pokrywają się z treścią oświadczeń.

Cennym jest, że składające się na meritum pracy doktorskiej oryginalne artykuły naukowe zostały opublikowane w dobrych recenzowanych czasopismach naukowych z „Wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych wraz z przypisaną liczbą punktów” z Załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 18 grudnia 2019 roku. Dwa artykuły przedstawiające wyniki prac eksperymentalnych zostały opublikowane w „*Toxins*” z IF = 3,531 (2019 r.) ze 100 pkt ministerialnymi. Trzecia publikacja to artykuł przeglądowy opublikowany w „*Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*” z IF = 9,912 (2018 r.) i 200 pkt ministerialnymi. Artykuł ten będący z założenia publikacją przeglądową dobrze podsumowuje stan wiedzy na temat, który doktorantka obrała jako przewodni w swojej pracy badawczej, dając jej tym samym pełny ogląd na problematykę użyteczności substancji pochodzenia roślinnego w zwalczaniu szkodników magazynowych. Opublikowanie takiego artykułu przed przystąpieniem do prac eksperymentalnych z pewnością pozwoliło doktorantce na lepsze i bardziej dojrzałe podejście do planowanej części eksperymentalnej. Tego rodzaju podejście powinno być standardem przy podejmowaniu prac badawczych w ramach studiów doktoranckich, gdyż daje ono doktorantowi bardziej pełny ogląd na tematykę, którą chce się zająć. Szkoda tylko, że wybrany tytuł czasopisma publikacji przeglądowej nie znalazł się na liście publikacji ewaluacyjnych dla dziedziny „nauki biologiczne”, co jeszcze raz potwierdza podnoszoną przez wielu tezę o wątpliwej korzyści dla polskiej nauki dzielenia czasopism na podgrupy – od dawna wiadomo, że najbardziej fascynujące odkrycia badawcze powstają na styku, często dalekich na co dzień nauk, co sprzyja rozwijaniu badań interdyscyplinarnych. Nie jest to jednak wina doktorantki, gdyż decyzja o publikacji zapadła o wiele wcześniej niż finalna (a w tym przypadku i fatalna w skutkach) decyzja Ministerstwa. Zdaniem recenzującego wybór czasopism jest w pełni uzasadniony tematyką badań wykonanych przez doktorantkę. Publikacja w tych czasopismach (a szczególnie w tytule bardzo wysoko notowanym na „rynku” nauki, jakim jest „*Comprehensive Reviews...*”) zapewnia szeroką dystrybucję artykułów i osiągnięć zespołu badawczego w świecie naukowym. Bardzo dobrze spełnia to warunek nieograniczonego dostępu do uzyskanych wyników badań, co ma znaczenie w udziale w ogólnoswiatowej wymianie wiedzy. Sumaryczny wkład autorki z opublikowanych 3 publikacji, mimo, że jedna z nich nie niesie ze sobą punktów ewaluacyjnych, dzięki ich wysokiej punktacji (100 pkt) wynosi w dziedzinie „Nauki biologiczne” 200 punktów i 400 pkt w indywidualnym dorobku naukowym. Kalkulacja ta dotyczy tylko publikacji za lata 2018-20, które zostały przedstawione do oceny w pracy doktorskiej.

Wykorzystanie przez doktorantkę modelowego już w badaniach fizjologicznych bezkręgowców *Tenebrio molitor*, który jest zarazem przedstawicielem, dużej, istotnej z ekonomicznego punktu widzenia, gatunku z grupy tak zwanych szkodników magazynowych, z pewnością spotka się z żywym zainteresowaniem innych badaczy. Już dzisiaj światowe bazy danych informują





o 19 cytowaniach publikacji przeglądowej – za Web of Science™, styczeń 2021 – oraz o 5 cytowaniach pierwszej z publikacji z wynikami prac eksperymentalnych. Drugi z artykułów z racji opublikowania go pod koniec roku 2020 nie doczekał się jeszcze odnotowania w publikacjach innych autorów.

Z formalnego punktu widzenia, treść przedstawionej do oceny pracy doktorskiej odpowiada jej tytułowi. Układ pracy, wymuszony poprzez włączenie do niej opublikowanych już artykułów naukowych jest typowy dla tego typu opracowań. Najogólniej mówiąc, autorka w swojej pracy analizuje oddziaływanie ekstraktu z psianki czarnej (*Solanum nigrum*) jak i czystych komponentów tego ekstraktu w postaci dwóch jego podstawowych glikoalkaloidów: solaniny i solamarginy na wybrane procesy fizjologiczne oraz zmiany na poziomie komórkowym w wybranych tkankach mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*). Rozwinięciem tych badań była analiza zmian toksyczności insektycydu z grupy związków fosforoorganicznych: fenitrothionu przy równoczesnym lub wcześniejszym podaniu glikoalkaloidów psianki.

W ocenie merytorycznej przedstawionej pracy doktorskiej niezmiernie trudno polemizować i wysuwać krytyczne uwagi w stosunku do opublikowanych już artykułów naukowych. Uznając każdy opublikowany artykuł za formalnie zakończony etap badań można tylko stwierdzić, że zaproponowany przez doktorantkę scenariusz badań jest poprawny, a przyjęte do analizy parametry fizjologiczne mącznika jak i tkanki jego dwu narządów – jelita środkowego i tylnego oraz ciała tłuszczowego, za uzasadnione. Opublikowane artykuły przed ich wydaniem zostały zwyczajowo zrecenzowane, przez co najmniej dwu niezależnych recenzentów, a miesięczne, czy dwumiesięczne okresy między wysłaniem a przyjęciem manuskryptów do druku upoważniają do stwierdzenia o wartości merytorycznej publikacji jak i o istotnej roli autorki, jako autora korespondencyjnego, która przyjęła na siebie obowiązki, w tym przypadku sprawnego i efektywnego autora korespondencji z redaktorem prowadzącym, co wiązało się z pewnością także z dokonywaniem wymaganych poprawek.

Trzy zaprezentowane przez doktorantkę publikacje stanowią logiczny ciąg według zasady „od ogółu do szczegółu”. Pierwsza z publikacji podsumowuje dostępną wiedzę na temat oddziaływania substancji pochodzenia roślinnego na owady-szkodniki magazynowanych produktów rolnych. W trzech zasadniczych rozdziałach publikacji autorzy podsumowali ich oddziaływanie na różne układy i procesy fizjologiczne u tej grupy owadów, sposoby ich podawania oraz typy preparatów zawierające interesujące autorów substancje czynne pochodzenia roślinnego. Cenną częścią publikacji jest 6 tabel, które podsumowują rozproszone dane na temat toksyczności wtórnych metabolitów uzyskanych z różnych gatunków roślin tylko w odniesieniu do szkodników spichrzów i magazynów. Wyróżnienie takie jest w pełni uzasadnione, gdyż ze względu na specyficzny rodzaj pokarmu, zazwyczaj o niewielkiej zawartości wody, powoduje, że owady te charakteryzują się często bardzo specyficznymi procesami fizjologicznymi jak i przystosowaniami anatomiczno-funkcjonalnymi. Dwie pozostałe publikacje, to typowe prace eksperymentalne, przeprowadzone według podobnego schematu, które



zasadniczo różnią się użytymi substancjami toksycznymi – tylko glikoalkaloidy psianki czarnej lub glikoalkaloidy w powiązaniu z syntetycznym pestycydem fosforoorganicznym. W obu przypadkach dokonano analiz biochemicznych zawartości glikogenu, tłuszczu i białek rozpuszczalnych a także analiz mikroskopowych zmian w komórkach ciała tłuszczowego i jelita środkowego z zastosowaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej wraz z analizą gęstości chromatyny w komórkach tych narządów w eksperymentach z użyciem fenitrotonu. W obu eksperymentach monitorowano także śmiertelność owadów po podaniu wymienionych wyżej substancji toksycznych. Tylko w pierwszej, wcześniejszej, publikacji autorzy opisują wpływ glikoalkaloidów psianki na częstotliwość skurczów serca jak i kurczliwość jajowodów i jelita tylnego mącznika młynarka. Szkoda, że podobnych badań nie wykonano w skojarzonym działaniu glikoalkaloidów z fenitrotonem, gdyż ten rodzaj badań stanowi unikalny i oryginalny dorobek zespołu badawczego doktorantki.

Oddzielnej analizie można poddać autorski rozdział doktorantki – „Wprowadzenie”. Od razu można dodać, że brakuje w dostarczonym manuskrypcie pracy doktorskiej rozdziału „Podsumowanie”, który spinałby jedną klamrą zarówno obie prace eksperymentalne jak i pracę teoretyczną. Pozwoliłby on na bezpośrednie wskazanie, jaka wiedza została dodana do globalnej wiedzy naukowej, szczególnie w kontekście opublikowanej wcześniej pracy przeglądowej. Spełniłby on tym samym rolę swoistego epilogu/uzupełnienia wydanej publikacji z roku 2018. Byłaby to także możliwość przedstawienia uzyskanych wyników badań w pełnym ich powiązaniu ze sobą, być może nawet z dodatkowo wykonaną analizą statystyczną w świetle wyników opublikowanych w obu pracach. Taka mini „metaanaliza” byłaby tym bardziej upoważniona, gdyż metodologia badań zasadniczo nie różniła się w obu projektach badawczych.

W rozdziale tym można znaleźć kilka potknięć. Na przykład, jaki jest związek między działaniem przeciwnowotworowym, przeciwzapalnym, antybakteryjnym i przeciwwirusowym produktów pochodzenia roślinnego a możliwością zastosowania tych produktów, jako środka zwalczającego szkodniki. W celach nie ujęto roli, jaką spełnić ma/miała praca przeglądowa, która jest elementem recenzowanej „Pracy doktorskiej”. W wykazie piśmiennictwa tego rozdziału brak jest notki bibliograficznej dla publikacji Dalhin i wsp. 2017. W „Podsumowaniu” w pierwszym zdaniu doktorantka dokonała pewnego uproszczenia pisząc „W opublikowanych przeze mnie pracach...”, gdyż jest ich współautorką, wiodącą, ale ciągle współautorką. Można to zrozumieć w kontekście odpowiedzialności, jaką doktorantka wzięła na siebie za publikacje, przyjmując rolę autora korespondencyjnego i autora pomysłu badawczego. W 4 punkcie podsumowania wyrażenie „...pewne efekty subletalne...” niczego nie wnosi. Powinno być wyraźnie wyartykułowane, jakie efekty.

Wykorzystane przez doktorantkę metody dobrze świadczą o opanowaniu warsztatu badawczego, który powinien charakteryzować każdego przyszłego doktora. Doktorantka w pełni wykorzystwała klasyczne metody badawcze stosowane w badaniach fizjologicznych i biochemicznych a także opanowała podstawy mikroskopii elektronowej i interpretacji uzyskanych wyników na podstawie



wykonanych obrazów mikroskopowych. Opanowała także podstawy analizy statystycznej stosując odpowiednio testy parametryczne i nieparametryczne dla określenia istotności różnic dla uzyskanych wyników.

Godnym zauważenia jest fakt, że publikacje zawierają bardzo bogaty i dobrze dobrany zestaw piśmiennictwa – publikacja przeglądowa zawiera ich aż 225, co dobrze świadczy o doktorantce i zdobytej wiedzy na interesujące ją tematy.

Mimo braku rozdziału podsumowującego obie publikacje eksperymentalne (także na tle pracy przeglądowej), doktorantka we „Wprowadzeniu” dokonała pewnego podsumowania uzyskanych wyników, które niestety jest tylko swoistym ich streszczeniem. Podsumowując przedstawione przez doktorantkę wyniki, można stwierdzić, że zasadniczym osiągnięciem jest wykazanie:

- toksycznego a zarazem zróżnicowanego, działania zarówno glikoalkaloidów zawartych w ekstrakcie z *S. nigrum* jak i w postaci chemicznie czystej na *T. molitor*, wykazując jednocześnie dla solasoniny i solamarginy działanie synergistyczne;
- braku działania addytywnego lub synergistycznego przy równoczesnym podaniu fenitrotonu i ekstraktu zawierającego glikoalkaloidy *S. nigrum*, przy jednoczesnym zwiększeniu działaniu toksycznego fenitrotonu po wcześniejszej (24 godziny) aplikacji glikoalkaloidów tej rośliny.

Szczególnie to drugie stwierdzenie niesie za sobą pewny potencjał aplikacyjny, gdyż skojarzone działanie obu substancji (glikoalkaloidy psianki i fenitroton) pozwoli przy zastosowaniu naturalnej substancji pochodzenia roślinnego obniżyć ilość użytego do zwalczania szkodników magazynowych toksycznego fenitrotonu.

Poza oceną merytoryczną rozprawy doktorskiej na pochwałę zasługuje jej staranne wykończenie edytorskie. Dbałość o szczegóły, nie zawsze najważniejsza z punktu widzenia merytorycznego tematu pracy, jest o tyle istotna, że jest cechą dobrego i wnikliwego badacza-naukowca. Rozdział autorski napisany jest w sposób zwięzły i zrozumiały dla czytelnika. Dodatkowym elementem mającym także wpływ na dojrzałość naukową doktorantki jest fakt, że część prac została wykonana w czasie pobytu na University of Basilicata w Potenza (Włochy), gdzie we współpracy z tamtejszymi badaczami pozyskała zasadniczy element do swojego projektu badawczego – ekstrakt z nasion *S. nigrum*. Świadczy to o umiejętności efektywnej współpracy w środowisku międzynarodowym, ważnej cechy współczesnego badacza.

Wnioski końcowe

Oceniana rozprawa doktorska daje wszelkie podstawy ubiegania się o stopień doktora nauk biologicznych, mimo kilku uwag krytycznych, jak brak podsumowania i kompleksowego spojrzenia na uzyskane wyniki badawcze. Doktorantka wykazała się umiejętnością sformułowania ciekawego tematu i powiązania w jedną całość problemu badawczego z uzyskanymi wynikami dla różnych poziomów organizacji biologicznej organizmu. Na uwagę zasługuje umiejętność



koordynowania prac podczas pisania publikacji przeglądowej, co wynika z roli pierwszego autora i autora korespondencyjnego. Uważam, że wyniki przedstawionego do recenzji manuskryptu stanowią oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a sama autorka udowodniła posiadanie umiejętności prowadzenia pracy naukowej jak i pracy w zespole badawczym.

W związku z powyższym, zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 roku w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzenia czynności w przewodzie doktorskim (Dz. U. 2018, poz. 261) i zgodnie z Ustawą z dnia 3 lipca 2018 roku – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018, poz. 1669) stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. U. 2017, poz. 1789) i wnioskuję do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie kandydatki na stopień doktora, mgr **Marty Spochacz** do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia.

Katowice, 08.01.2021 r.