

Katowice, dn. 15 listopada 2024 r.

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

Rada Naukowa
Wydziału Biologii
Uniwersytetu A. Mickiewicza w Poznaniu

RECENZJA

Zgodnie z ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) przedstawiam recenzję rozprawy doktorskiej mgr Anetty Lewandowskiej-Wosik pt. „Effects of nicotine and acetamiprid on *Drosophila melanogaster* and *Drosophila suzukii* – Efekty działania nikotyny i acetamiprydu na *Drosophila melanogaster* i *Drosophila suzukii*”, przygotowanej na Wydziale Biologii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu. Promotorem rozprawy jest dr hab. Ewa Chudzińska, prof. UAM.

1. Ocena ogólnej wiedzy teoretycznej mgr Anetty Lewandowskiej-Wosik, ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie „nauki biologiczne”.

Po zapoznaniu się z przedstawioną rozprawą doktorską oraz towarzyszącymi jej publikacjom oceniam, że ogólna wiedza teoretyczna mgr Anetty Lewandowskiej-Wosik jest zaprezentowana w sposób odpowiadający wymaganiom dla rozprawy doktorskiej.

Uzasadnienie

Treść przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej zawierającej opublikowane artykuły naukowe (Ecotoxicology and Environmental Safety 280; Insects 15) oraz towarzyszący im „Wstęp” wskazują na istotną i szeroką znajomość tematyki oddziaływania neurotoksyn na organizmy zwierząt, głównie owadów, ze szczególnym wyróżnieniem naturalnej nikotyny oraz związków syntetycznych z grupy neonikotynoidów, jak zastosowany przez doktorantkę w badaniach acetamipryd. Świadczy o tym zebrany i cytowany w publikacjach zestaw piśmiennictwa charakteryzujący się zarówno publikacjami najnowszymi, nawet z 2024 roku, jak i starszymi z końca ubiegłego wieku. W częściach wstępnych publikacji cytowane są zazwyczaj publikacje przeglądowe, reasumujące wiedzę na poruszany temat, natomiast w dyskusjach autorka najczęściej odwołuje się do piśmiennictwa bardziej szczegółowego. Przedstawiony w publikacjach bogaty zestaw cytowanego piśmiennictwa (około 50 pozycji) zalicza często takie artykuły do





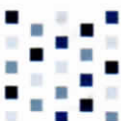
grupy publikacji określanych, jako te z „Enriched Cited References”, tak jak czyni to na przykład baza danych „Web of Sciences”. Selekcja ważnego i istotnego dla doktorantki piśmiennictwa z pewnością nie była łatwa, gdyż tylko w 2024 roku ukazało się ponad 200 publikacji, w których wspomniany neonikotynoid – acetamipryd był rozważany zarówno w kontekście oddziałującej na organizm żywy neurotoksyny jak i czynnika zanieczyszczającego nasze środowisko. Autorka przedstawia także podstawowe piśmiennictwo na temat obu, wykorzystanych w swoich eksperymentach, gatunków z rodzaju *Drosophila* – *D. melanogaster* i *D. suzukii*. Przedstawione informacje i piśmiennictwo na temat użytych metod również nie budzą zastrzeżeń. Uzyskane i opublikowane wyniki w zrecenzowanych przez niezależnych recenzentów artykułach, mogą jedynie dobrze świadczyć o pozyskanej wiedzy teoretycznej, którą doktorantka wykorzystała podczas przeprowadzania części badawczej swojego projektu doktorskiego. Przedstawiony w opisie dorobku naukowego doktorantki zestaw kolejnych publikacji może tylko potwierdzać tą tezę. Istotnym wydaje się zwrócenie uwagi na wykorzystanie jednej z metod biomonitoringu środowiska, jaką jest wskaźnik fluktuacji asymetrycznej. Opis tej metody i przedstawione uzyskane za jej pomocą wyniki, świadczą o jej dogłębnym poznaniu i wykorzystaniu przez doktorantkę, zarówno dla organizmów zwierzęcych jak i roślinnych. Także zawarta w dorobku doktorantki informacja o 19 publikacjach popularnonaukowych (głównie dla czasopisma „Biologia w szkole”) świadczy o wiedzy ugruntowanej, która została spopularyzowana dla niespecjalistów, co zazwyczaj nie jest zadaniem łatwym.

Czasopismo *Ecotoxicology and Environmental Safety* o IF około 6,2 jest wysoce cenionym czasopismem wśród biologów zajmujących się oddziaływaniem czynników toksycznych na organizmy w środowisku. Opublikowanie swoich wyników w tym czasopiśmie ze wskazaniem na funkcję autora korespondencyjnego, jest tylko potwierdzeniem, że zastosowana metoda do analizy oddziaływań genotoksycznych w postaci testu kometkowego (*comet assay*) i opracowanie otrzymanych wyników są poprawne i nie budziły zastrzeżeń recenzentów. Potwierdza to nabytą przez doktorantkę wiedzę i kompetencje, które musi opanować każdy samodzielny adept nauki, jaką jest droga od teorii, poprzez sformułowane hipotezy badawczej, wykonanie eksperymentu i analizy wyników do wyciągnięcia wniosków. Należy także zwrócić uwagę na wykorzystanie wiedzy i umiejętności analizy statystycznej uzyskanych wyników, które autorka pokazała na przykład w opracowaniu wyników dla wskaźnika fluktuacji asymetrycznej, gdzie wykorzystwała między innymi analizę głównych składowych (Principal Component Analysis – PCA).

Należy dodać, że wiedza teoretyczna doktorantki, także z innych zagadnień niż te przedstawione w dysertacji, została udokumentowana współautorstwem w 5 innych publikacjach oraz 19 doniesieniach konferencyjnych. Stosunkowo szeroki zakres tematyczny innych publikacji może jedynie świadczyć o otwartości doktorantki na różną tematykę badawczą z zastosowaniem znanych sobie metod zarówno w badaniach na organizmach zwierzęcych jak i roślinnych.

2. Ocena umiejętności prowadzenia samodzielnej pracy naukowej przez mgr Anetty Lewandowskiej-Wosik.

Na podstawie przedstawionej do recenzji rozprawy oceniam, że mgr Anetta Lewandowska-Wosik posiada adekwatną umiejętność formułowania celów badawczych, planowania i prowadzenia samodzielnych



eksperymentów, ich analizy oraz prawidłowej interpretacji wyników, spełniając ustawowy wymóg dla uzyskania stopnia doktora.

Uzasadnienie

Zarówno zasadniczy cel projektu pracy doktorskiej, jak i cele szczegółowe zostały zdefiniowane klarownie i czytelnie. Postawiona hipoteza badawcza nie budzi zastrzeżeń, podobnie jak postawione hipotezy szczegółowe. Dodatkowo doktorantka wyartykułowała 7 „zadań badawczych”, co z pewnością ułatwiło i ukierunkowało przeprowadzenie całego projektu badawczego. Opis metodyczny przeprowadzonych eksperymentów umożliwia ich bezproblemową replikację, co zostało zaaprobowane przez niezależnych recenzentów jak i wydawców publikacji. Na szczególną pochwałę zasługuje przedstawienie schematu blokowego całości realizowanego projektu, zarówno w części wstępnej dysertacji jak i w publikacji na temat genotoksyczności acetamiprydu. Z pewnością ułatwia to późniejsze śledzenie uzyskanych wyników. Analiza zmian w jakości DNA w neuroblastach mózgowia larw 3 stadium rozwojowego obu gatunków *Drosophila* wskazuje na wysokie umiejętności techniczne i manualne w preparowaniu tak małych obiektów. Także późniejsza analiza statystyczna, szczególnie danych na temat zmian w użytkowaniu skrzydeł obu gatunków świadczy o wystarczającej biegłości w opracowaniu uzyskanych wyników.

W projekcie doktorskim mgr Anetty Lewandowskiej-Wosik należy docenić koncepcję badań, na trzech, diametralnie różnych poziomach organizacji funkcjonowania organizmu. Jeśli w badaniach toksykologicznych analizę przeżywalności poddanych czynnikowi toksycznemu organizmów można uznać za banalną i naturalną, to zaproponowanie schematu badawczego: test kometkowy DNA neuroblastów mózgowia – asymetria fluktuacyjna użytkowania skrzydeł – behawioralny test wspinaczkowy należy uznać za wysoce oryginalny. Dzięki takiemu zaplanowaniu eksperymentu doktorantka te same czynniki toksyczne – nikotyna i acetamipryd – mogła analizować na tym samym materiale badawczym na poziomie subkomórkowym, organizmalnym i behawioralnym. Dodatkowo, analiza na poziomie subkomórkowym, jakim są zmiany w strukturze DNA mogła w założeniu dobrze korelować z testem behawioralnym. Szkoda, że w opublikowanym artykule doktorantka nie dokonała bezpośredniej korelacji uzyskanych wyników uzyskanych tymi dwoma metodami badawczymi. Brakuje także przedstawienia analizy porównawczej wyników uzyskanych z pomiarów morfologii zmian w użytkowania skrzydeł dla obu gatunków *Drosophila*. W przedstawionej rozprawie doktorskiej z pewnością było miejsce dla pokazania całego procesu przetwarzania wyników, w tym danych niemalże surowych. Może warto było przedstawić dodatkowe, z pewnością ciekawe analizy statystyczne uzyskanych wyników, na które zazwyczaj nie ma miejsca w standardowo publikowanych artykułach. Niestety doktorantka z tej okazji nie skorzystała. Niestety zrecenzowane i opublikowane wyniki badań nie dają takiej szansy recenzentowi rozprawy doktorskiej, a jedynie zapewniają o ich wartości naukowej. Tym bardziej, że analizę niektórych danych można było przedstawić inaczej, co nie oznacza, że lepiej. Na przykład, dlaczego na wszystkich osiach X wykresów przedstawiających zmiany w zależności od stężenia nikotyny/acetamiprydu są przedstawione na osi w sztucznie wyznaczonych przedziałach (odstępach) a nie naturalnych, wynikających z wartości stężeń. W przypadku wykresu przeżywalności doktorantka uzyskiwałaby niemal linie proste. Uzyskując metodą najmniejszych





kwadratów krzywe regresji liniowej to z otrzymanych dla nich równań z łatwością można było obliczyć dokładne wartości LD_{50} . Można także zapytać dlaczego dla wyznaczenia LD_{50} doktorantka nie użyła metody probitowej – wszystkie potrzebne dane aby to zrobić były dostępne.

Dyskusje przedstawionych w publikacjach wyników są obszerne, wielowątkowe i zrównoważone. Jednakże autorka nie wyciąga zbyt dalece idących konkluzji, omawiając uzyskane wyniki w kontekście ich pragmatycznego wykorzystania w zwalczaniu *D. suzukii*, co było jednym z celów podjętych badań. Misją każdego badacza nie jest uzyskiwanie wyników badawczych jako takich, a umiejętność ich transferu do społeczeństwa celem pobudzenia do dalszych działań, badawczych czy też aplikacyjnych. Wskazówki o wysokiej wartości merytorycznej dla innych są zawsze wysoce cenione. Na koniec należy zauważyć, że format i styl rozprawy jest prawidłowy, dostrzeżone nieliczne błędy techniczne i językowe nie wpływają na jej wartość merytoryczną, nie były zatem przedmiotem oceny.

3. Ocena, czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Przedstawiona do recenzji rozprawa bez wątplenia zawiera oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i w pełni spełnia wymogi ustawowe w tym zakresie.

Uzasadnienie

W chwili obecnej procesy globalizacji gospodarki, nieograniczonych możliwości przenoszenia dóbr między różnymi zakątkami świata stwarzają na niespotykaną dotychczas skalę możliwość szybkiego i masowego transferu gatunków, nawet między kontynentami. Dodatkowym, sprzyjającym tym „wędrownikom” gatunków czynnikiem są zmiany klimatyczne, umożliwiające zasiedlenie obszarów dotychczas dla nich niedostępnych. Przykładów można byłoby mnożyć wiele, jak pojawienie się w Europie inwazyjnej stonki kukurydzianej *Diabrotica virgifera* z Ameryki Północnej (lata 90. XX w.) czy ćmy bukszpanowej *Cydalima perspectalis* z Chin (pierwsza dekada XXI w.). Oba wymienione gatunki praktycznie w pełni opanowały Europę na obszarach spełniających minima temperaturowe dla ich rozwoju.

Doktorantka w swoich badaniach wskazała na kolejny gatunek inwazyjny dla Europy, jakim jest *Drosophila suzukii*, szkodnik miękkich owoców z grupy jagód i pestkowców, jak np. wiśnie. Stąd też podjęcie analizy badawczej, w jaki sposób gatunek ten reaguje na dostępne w użytkowaniu insektycydy zawierające w swoim składzie acetamipryd było wysoce uzasadnione i trafne. Każda informacja pozwalająca lepiej poznać biologię gatunku inwazyjnego na nowych obszarach jego występowania jest niezwykle cenna. Tym bardziej cenna jest informacja toksykologiczna i ekotoksykologiczna, gdyż najczęściej zmienione warunki środowiska modyfikują zarazem działanie czynnika toksycznego, nawet tego dedykowanego dla konkretnego szkodnika. Ze względu na okres półtrwania każdego środka owadobójczego w środowisku, szczególnie cenne są informacje na temat długotrwałego, wielopokoleniowego oddziaływania dawek subletalnych, które nie są zapisane w rekomendacjach dla użytkownika przez producenta. Podjęcie takiej próby badań może mieć duże implikacje praktyczne, gdyż być może z jednej strony pozwoli na obniżenie stosowanych dawek insektycydu, gdy będzie on skierowany tylko przeciwko *D. suzukii*, tym bardziej, że jak wykazała doktorantka *D. suzukii* jest bardziej wrażliwa niż *D. melanogaster*.



Uzyskane wyniki dostarczają także niezwykle cennej informacji o zmianach budowie (morfologia skrzydeł) i behawiorze tych owadów, które mogą być niezwykle cenne w biomonitoringu środowiska, np. z wykorzystaniem pszczół. Kompleksowość analiz zaproponowanych przez doktorantkę, od poziomu subkomórkowego do behawioralnego daje takie możliwości. Także niezwykle cenne są dane porównawcze między dwoma blisko spokrewnionymi gatunkami *Drosophila*, z których *D. melanogaster* jest gruntownie przebadana, co daje szerokie możliwości do analiz porównawczych. Należy tylko mieć nadzieję, że uzyskane, a nieopublikowane jeszcze wyniki, znajdą swoje odzwierciedlenie w kolejnych publikacjach. Także publikacja wskazująca na aplikacyjną wartość uzyskanej wiedzy celem lepszego zwalczania *D. suzukii* w Polsce (Europie) byłaby bardzo cenna.

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, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 2018, poz. 261) oraz zgodnie z artykułem 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018, poz. 1669 z późn. zm.) stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. „Effects of nicotine and acetamiprid on *Drosophila melanogaster* and *Drosophila suzukii* – Efekty działania nikotyny i acetamiprydu na *Drosophila melanogaster* i *Drosophila suzukii*” spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. U. 2017, poz. 1789) oraz wnioskuję do Rady Naukowej Wydziału Biologii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie mgr Anetty Lewandowskiej-Wosik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. Mirosław Nakonieczny, prof. UŚ