



Poznań, 23.07.2020

Dr hab., prof. UAM Małgorzata Słocińska
Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Zwierząt
Wydział Biologii UAM

Recenzja

**Pracy doktorskiej mgr Michała Krzyżowskiego pt.
„Oddziaływanie krótkołańcuchowych kwasów organicznych i wybranych
olejków eterycznych na parametry rozwojowe i behavior strąkowca
czteroplamego *Callosobruchus maculatus* (F.)”.**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Michała Krzyżowskiego wykonana została w Instytucie Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, w Zespole Fizjologii i Etiologii Owadów pod kierunkiem dr hab. Agnieszki Babczyńskiej, prof. UŚ oraz dr Jacka Francikowskiego. Celem pracy było oszacowanie potencjalnego wpływu insektycydowego związków pochodzenia roślinnego: olejków eterycznych i lotnych kwasów tłuszczowych na wybrane parametry fizjologiczne i behawioralne jednego z najpowszechniejszych szkodników zbiorów, chrząszcza strąkowca czteroplamego *Callosobruchus maculatus*. Poszukiwanie alternatywnych metod zwalczania owadów szkodliwych dla rolnictwa i gospodarki w dobie powszechnego stosowania syntetycznych środków ochrony roślin i związanego z tym zatruwania ekosystemów, eutrofizacji wód, erozji gleb czy selekcjonowania gatunków owadów o zwiększonej odporności na pestycydy, jest obszarem badań wyjątkowo aktualnym i potrzebnym. Szczególnie istotne jest poszukiwanie takich insektycydów, które będą łatwe do pozyskania ze środowiska naturalnego oraz neutralne dla środowiska, Stąd wybór tematu jak i związków do badań uważam za bardzo ciekawy.



Rozprawę doktorską stanowią cztery spójne tematycznie artykuły, opublikowane w latach 2019-2020 w międzynarodowych czasopismach indeksowanych w bazie JCR; w tym jedna wyróżniająca się praca opublikowana w *Journal of Pest Science* (200 pkt MNiSzW). Chciałabym w tym miejscu podkreślić, że oprócz przedstawionych do rozprawy doktorskiej publikacji, w dorobku pana M. Krzyżowskiego znajduje się 6 innych prac (opublikowane w latach 2008-2019), co wskazuje na ponadprzeciętną aktywność naukową i ogromną pracowitość Doktoranta.

W ramach rozprawy zostały przedstawione następujące publikacje:

- **Krzyżowski M**, Francikowski J, Baran B, Babczyńska A. Physiological and behavioral effects of different concentrations of diatomaceous earth on common stored product pest *Callosobruchus maculatus*, *Journal of Stored Products Research* 82, 110-115, 2019

- **M Krzyżowski**, B Baran, B Łozowski, J Francikowski. The role of dilution mediums in studies of fumigant insecticidal activity of essential oils, *Journal of Pest Science*, 2020

- **M Krzyżowski**, B Baran, B Łozowski, J Francikowski. The Effect of Rosmarinus officinalis Essential Oil Fumigation on Biochemical, Behavioral, and Physiological Parameters of *Callosobruchus maculatus*, *Insects* 11 (6), 344, 2020

- **M Krzyżowski**, J Francikowski, B Baran, A Babczyńska. The short-chain fatty acids as potential protective agents against *Callosobruchus maculatus* infestation, *Journal of Stored Products Research* 86, 101570, 2020

Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) powyższych publikacji wynosi 11,207, a liczba punktów MNiSzW to 500.

Należy podkreślić, że we wszystkich publikacjach mgr Michał Krzyżowski jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym, ponadto deklarowany udział poszczególnych autorów w przedstawionych pracach wskazuje, że wkład Doktoranta w projektowanie badań, wykonanie eksperymentów oraz pisanie manuskryptów jest zdecydowanie przeważający.



Ze względu na to iż prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach i poddane wnikliwej ocenie przez niezależnych recenzentów i ekspertów z dziedziny, którzy docenili wartość merytoryczną prezentowanych wyników, skoncentruję się jedynie na ogólnej ocenie wykonanych przez mgr Michała Krzyżowskiego badań.

Uwagę zwraca różnorodność stosowanych do realizacji postawionych zadań technik, świadcząca o wszechstronności Doktoranta w pracy doświadczalnej. Badania zostały przeprowadzone na wielu poziomach, począwszy od badań przesiewowych, mających na celu wybranie substancji o największym potencjale owadobójczym, poprzez badanie parametrów fizjologicznych, behawioralnych oraz roli medium dyspersyjnego na aktywność insektycydową badanych substancji. By jak najpełniej scharakteryzować wpływ badanych związków na szkodniki oznaczono ich toksyczność (określenie dawki LC), potencjał repelencyjny, zanalizowano odpowiedź lokomotoryczną owadów na aplikowaną substancję (test open-field) oraz zużycie tlenu, zbadano ilość składanych jaj i wylęgalsność larw. Ponadto, określono aktywność enzymów tj. acetylocholinoesteraza, (AChE), którego zaburzenia mogą upośledzać koordynację ruchową owadów, a także katalazy i transferazy glutationowej, stanowiących pierwszy mechanizm obrony, odpowiedzialny za detoksykację ksenobiotyków.

Do najważniejszych wniosków uzyskanych z przeprowadzonych badań należy wytypowanie 2 najbardziej owadobójczych względem strąkowca czteroplamego *C. maculatus* związków ekstraktu z rozmarynu lekarskiego oraz kwasu propionowego oraz stwierdzenie, że kluczowy dla toksyczności substancji jest dobór odpowiedniego rozcieńczalnika. Ponadto, badania prowadzone na ziemi okrzemkowej dowodzą, że może być ona efektywnym nośnikiem dla płynnych związków pochodzenia naturalnego.



Moje pytania dotyczące pracy doktorskiej są następujące:

- Czy wiadomo jaka jest selektywność gatunkowa testowanych substancji lub (na podstawie literatury) jaka jest wiedza na temat specyficzności działania innych związków pochodzenia roślinnego (np. glikoalkaloidów) ? Czy planuje się badania dotyczące wpływu badanych związków roślinnych na owady pożyteczne np. pszczoły?
- Gdyby badania przenieść na pole (otwarta przestrzeń, działanie promieni słonecznych, wpływ wilgotności) jaka jest spodziewana skuteczność owadobójcza testowanych - lotnych związków ? Jaki kolejny etap i kierunek badań z wykorzystaniem roślinnych ekstraktów zdaniem Doktoranta byłby najważniejszy?

Podsumowując, uważam, że badania prowadzone przez mgr M. Krzyżowskiego mające na celu poznanie mechanizmów działania substancji, które mogą osłabić populację szkodnika, poprzez wpływ na jego motorykę, parametry rozwojowe oraz procesy biochemiczne zachodzące na poziomie komórkowym, a jednocześnie - neutralne dla środowiska są niezwykle ważne. Badania Doktoranta pokazują również jak bardzo ważne dla skuteczności badanej substancji jest użycie właściwego solwentu. Przeprowadzone, gruntowne analizy mają potencjalny charakter aplikacyjny w ograniczeniu infestacji *C. maculatus* i mogą w przyszłości stanowić element zintegrowanego systemu ochrony roślin, o czym świadczy między innymi, uruchomienie procesów patentowych. Nowatorskie metody oceny biopestycydów zastosowane w trakcie realizacji pracy doktorskiej mogą być z powodzeniem wykorzystane przez Doktoranta do dalszych badań z dużym potencjałem otrzymania ich finansowania.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pana M. Krzyżowskiego spełnia warunki wymagane Ustawą z dnia 14.03.2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz.595), z późniejszymi zmianami z dnia 18.03.2011 roku (Dz. U. Nr 84, poz.455), w związku z art. 179 ust.1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. (Dz. U. poz. 1669). W związku z powyższym wnioskuję o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.