

Siedlce, 28.06.2022r.

Dr hab. Sylwia Goławska, prof. uczelni
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych
Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach

Ocena rozprawy doktorskiej mgra Jana Dampca, pt. „Reakcje adaptacyjne wybranych gatunków mszyc (Hemiptera: Aphidoidea) na wzrost temperatury” wykonanej w Instytucie Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Rzeszowskiego

Rozprawa doktorska mgra Jana Dampca „Reakcje adaptacyjne wybranych gatunków mszyc (Hemiptera: Aphidoidea) na wzrost temperatury” została napisana pod kierunkiem promotora dr hab. Romy Durak, prof. UR i promotora pomocniczego dr Mateusza Mołonia. Na pracę składa się cykl trzech publikacji. Moim zdaniem taka forma doktoratu jest z jednej strony ułatwieniem dla recenzenta, gdyż praca jest po recenzjach i obróbce redakcyjnej w czasopiśmie, a z drugiej daje mu mniejsze możliwości poznania pełnego warsztatu doktoranta.

Prace ukazały się w renomowanych i wysokopunktowanych czasopiśmie naukowych. Publikacje, o których mowa, opublikowane zostały w latach 2020 – dwie prace, 2021 – 1 praca, w Environmental and Experimental Botany, Insects i Biology. Są to czasopisma z tzw. listy filadelfijskiej. Sumaryczna wartość współczynnika IF publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi 13,393 a łączna liczba punktów MNiSW 300. Wszystkie prace powstały we współautorstwie. Mgr Jan Dampc jest pierwszym autorem w dwóch z nich, w jednej drugim, a swój udział w ich opracowaniu szacuje na 50%, co potwierdzają oświadczenia zawarte w 12 rozdziale rozprawy. W mojej ocenie stanowi to znaczące osiągnięcie na tym etapie działalności naukowej, umożliwiające ubieganie się o stopień naukowy doktora nauk biologicznych.

Publikacje stanowiące właściwą treść rozprawy zostały poprzedzone treściami wprowadzającymi napisanymi w języku polskim, podzielonymi na jedenaście odrębnych rozdziałów merytorycznych: 1., 2. Streszczenie w językach polskim i angielskim, 3. Wprowadzenie, 4. Cele pracy, 5. Hipotezy, 6. Materiały i metody badań, 7. Wyniki, 8. Dyskusja, 9. Wnioski, 10. Literatura, 11. Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej. Ponadto w rozdziale 12, na stronach 90-92 znalazło się oświadczenie autora rozprawy doktorskiej

dotyczące wkładu pracy w opublikowaniu artykułów oraz współautorów publikacji dotyczące procentowego udziału w ich przygotowaniu. Dysertacja, w części opisowej (poza publikacjami stanowiącymi jej główny trzon) zawiera piętnaście rycin ilustrujących przedstawione treści. Przyjęty układ i struktura dysertacji są przejrzyste i właściwe dla tego typu prac i nie budzą zastrzeżeń. Praca jest obszernym opracowaniem liczącym w sumie 92 strony maszynopisu. Jest napisana poprawnym i zrozumiałym językiem a stosowana specjalistyczna terminologia jest poprawna merytorycznie. Praca zawiera interesujący materiał dowodowy uzyskany na drodze pracochłonnych badań, który pozwala zrozumieć zjawisko adaptacji mszyc do wzrostu temperatury. Rozprawa została przygotowana starannie, z dużą dbałością o formę edytorską. Doktorant nie uniknął jednak błędów redakcyjnych, interpunkcyjnych, gramatycznych czy stylistycznych. Wszystkich potknięć językowych i redakcyjnych nie będę wymieniać, ponieważ nie są one istotne w ocenie merytorycznej i formalnej przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej.

Pierwsze dwa rozdziały dysertacji to Streszczenie w językach polskim i angielskim, co do których nie mam zastrzeżeń ani wątpliwości.

W trzecim rozdziale pracy, Doktorant w interesujący sposób wprowadza w tematykę badanego zagadnienia. Szkoda, że nie zwraca w nim uwagi na ich wartość poznawczą a może i praktyczną. W poszczególnych akapitach tej części dysertacji Autor w wyczerpujący sposób przedstawia przewidywania odnośnie zmian klimatycznych, zwłaszcza wzrostu temperatury oraz ich wpływu zarówno na owady roślinożerne jak i ich rośliny żywicielskie. Autor wyjaśnia zależności pomiędzy stresem termicznym a procesami wytwarzania i zmiatania reaktywnych form tlenu (RFT) i stresem oksydacyjnym oraz opisuje enzymatyczny mechanizm obronny w celu przeciwdziałania skutkom stresu oksydacyjnego wskazując, na enzymy odgrywające istotną rolę w obronie przed RFT zarówno u mszyc jak i roślin. We wstępie po raz pierwszy pojawiają się nazwy gatunków mszyc, stanowiących materiał badawczy, które Autor krótko scharakteryzował: mszyca *Aphis pomi* i *Macrosiphum rosae*. Szkoda, że nazwy polskiej mszycy *M. rosae* brak. Moim zdaniem w pracy przy pierwszym użyciu nazwy mszycy powinna zostać podana zarówno nazwa polska jak i łacińska, natomiast w dalszej części pracy można używać tych nazw zamiennie, albo polskiej albo łacińskiej. Brakuje mi też krótkiej charakterystyki użytych do badań roślin żywicielskich badanych gatunków mszyc – pigwowca japońskiego i róży pomarszczonej oraz wyjaśnienia powodu wyboru do badań tych gatunków mszyc i ich żywicieli.

W czwartym rozdziale Doktorant sformułował cele pracy, a w piątym przedstawił trzy hipotezy badawcze. Nasuwa mi się tu pewna uwaga. W mojej opinii nie powinno się mówić „biologia” odnośnie parametrów cyklu rozwojowego. Użyłabym raczej sformułowania „bionomia”. Biologia to dyscyplina naukowa a cykl rozwojowy to bionomia. Hipotezy badawcze w mojej ocenie nie budzą zastrzeżeń ani wątpliwości. Pierwsza z nich zakłada wpływ wzrostu temperatury na przyspieszenie rozwoju, skrócenie długości życia, obniżenie płodności i parametrów demograficznych mszyc, druga wzrost enzymatycznej odpowiedzi obronnej mszyc i przyspieszenie ich metabolizmu, a trzecia wywołanie dwóch etapów odpowiedzi obronnych mszyc na roślinach żywicielskich.

Rozdział 6 Materiały i metody badań to rozdział opracowany szczegółowo. Autor w odrębnych podrozdziałach opisuje warunki hodowli mszyc i uprawy roślin, metodykę badań dotyczących bionomii mszyc, obliczeń parametrów demograficznych populacji owadów, pobierania i przygotowania materiału roślinnego i zwierzęcego do oznaczeń aktywności enzymów, oznaczenia aktywności badanych enzymów a także analizy statystycznej wyników. Zastosowane metody opisane zostały poprawnie i szczegółowo, wskazując na bardzo szeroki zakres umiejętności jakie zdobył Doktorant w trakcie prowadzenia badań a opracowanie statystyczne wyników oparte jest na dokładnie wybranych testach. Mam pewne uwagi dotyczące statystyki. Skoro do zbadania różnic między średnią aktywnością enzymatyczną zastosowano analizę wariancji ANOVA, oraz test post-hoc Duncana do porównań szczegółowych, to taką samą zasadę należało zastosować wykorzystując test Kruskala-Wallisa z testem wielokrotnych porównań jako post-hoc. Sam test Kruskala-Wallisa nie jest przecież testem post-hoc (Ryc. 9, 11, 13), którego można użyć po ANOVIE. Test Kruskala-Wallisa jest to test, który się stosuje w przypadku kiedy nie mamy rozkładu normalnego zmiennej zależnej (jest to więc test równoważny ANOVIE, tylko, że nieparametryczny).

Ryc. 1, 2 – dla określenia wpływu temp. na długość życia i średnią płodność stosowano test Kruskala-Wallisa, więc jako miara położenia powinna być stosowana MEDIANA a nie średnia arytmetyczna, a miarą rozproszenia powinny być odchylenia ćwiartkowe (a nie SE lub SD). Dotyczy to też wszystkich publikacji. W teście Kruskala-Wallisa do obliczeń wykorzystywane są rangi a nie konkretne dane liczbowe. Sam test Kruskala -Wallisa nie daje odpowiedzi, które poziomy określonego czynnika różnią się istotnie. Powinien być użyty test porównań wielokrotnych. Ryc. 2 jest źle złożona. Podpis do Ryc. znalazł się na następnej stronie a nie bezpośrednio pod Ryciną 2.

W rozdziale siódmym Wyniki na początku zawarto wykaz publikacji składających się na pracę doktorską, skład ich autorów, dane bibliograficzne, Impact Factor oraz liczbę punktów wg listy MNiSW. W dalszej kolejności przedstawiono wyniki realizacji zadań badawczych, w załączonych do dysertacji publikacjach. Wyniki są najobszerniejszą częścią rozprawy (15 stron razem z rycinami), zaprezentowane są w sposób przejrzysty. Ryciny jasno dokumentują uzyskane wyniki i wyciągane z nich wnioski. Szkoda, że Doktorant nie pokusił się aby opisy w legendach wykresów zrobić w języku polskim. Rozdział ten jest podzielony na cztery podrozdziały. Podsumowano w nich wyniki badań zawartych w publikacjach będących podstawą do ubiegania się o stopień naukowy. Nie budzi on zastrzeżeń, zarówno od strony merytorycznej jak i formalnej. Autor pracy ustalił:

- wzrost temperatury negatywnie wpływa na bionomię i parametry demograficzne obu badanych gatunków mszyc. Gatunki te najkrócej żyły w temperaturze 28°C. Wzrost temperatury do 28°C wpływa na skrócenie okresu reprodukcji, obniżenie płodności samic oraz parametrów demograficznych. Parametry demograficzne populacji *A. pomi* i *M. rosae* były najwyższe w temperaturach 20 i 25°C (publikacja 1 i 3).

- temperatura otoczenia wpływa na aktywność enzymatyczną w tkankach mszyc. Reakcje *A. pomi* i *M. rosae* na stres termiczny są dwuetapowe. Pierwszy etap odpowiedzi obejmuje zmiany metaboliczne i zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych, detoksykacyjnych i oksydoredukcyjnych. Wzrost temperatury powoduje większą aktywność enzymów i wzrost tempa metabolizmu mszyc. Dzięki temu owady są lepiej chronione przed stresem oksydacyjnym. Drugi etap odpowiedzi jest spowodowany wpływem rośliny żywicielskiej poddanej dwóm stresorom - temperaturze i żerowaniu mszyc. Stres ten wzmacnia mechanizmy obronne rośliny co z kolei nasila mechanizmy obronne mszyc. Temperatura wpływa na reakcje obronne *A. pomi* i *M. rosae*. Najwyższe miały miejsce w temperaturze 28°C. U badanych gatunków mszyc wzrost temperatury już w pierwszej dobie spowodował gwałtowny wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i katalazy (CAT). Wraz ze wzrostem temperatury wzrastała w czasie u obu gatunków mszyc aktywność transferazy S-glutationowej (GST) i β -glukozydazy jak również oksydazy polifenolowej (PPO) i peroksydazy (POD) (publikacja 2 i 3).

- W obu roślinach żywicielskich poddanych działaniu dwóm stresorom (temperatura i żerowanie mszyc) już w pierwszej dobie doświadczenia stwierdzono większą aktywność enzymów antyoksydacyjnych. Ich aktywność malała wraz ze wzrostem temperatury. Najwyższą aktywność enzymów stwierdzono w temperaturze 20°C. Aktywność enzymów

detoksykacyjnych obniżała się wraz ze wzrostem temperatury. Najwyższą ich aktywność w tkankach roślin wykazano w temperaturze 20°C. Również najwyższą aktywność PPO i POD w tkankach badanych roślin żywicielskich stwierdzono w temperaturze 20°C (publikacja 1 i 3).

- temperatura wpływa na aktywność metaboliczną mszyc. Wraz ze wzrostem temperatury wzrasta energia cieplna mszyc. Najwyższą emisję mocy cieplnej stwierdzono w temperaturze 28°C (publikacja 2).

Rozdział 8 Dyskusja liczy 6 stron. Dyskusja jest adekwatna do osiągniętych wyników oraz właściwie odnosi się do literatury tematu. Doktorant zwięźle, koncentrując się na najważniejszych uzyskanych wynikach, dokonuje ich podsumowania konfrontując je z cytowanymi danymi literatury. Autor jest bardzo dobrze zaznajomiony z literaturą przedmiotu, na co wskazuje obszerny wykaz piśmiennictwa. Większość prac, to publikacje aktualne i nowe, co tylko podkreśla ważność podjętej tematyki i interdyscyplinarność przeprowadzonych badań.

W rozdziale nr 9 Pan mgr Jan Dampc zamieszcza pięć wniosków odwołując się w przypadku każdego z nich do hipotez badawczych. Ta część pracy nie budzi zastrzeżeń, a wnioski uważam za dobrze sformułowane i uzasadnione materiałem dowodowym w postaci wyników przeprowadzonych badań.

Wykaz literatury obejmuje 87 pozycji, w większości to oryginalne prace twórcze opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym po 2000 roku. Fakt ten potwierdza umiejętność posługiwania się literaturą naukową w celu przygotowywania wartościowych i nowatorskich publikacji.

Rozdział 11 stanowią publikacje składające się na ocenianą rozprawę doktorską. Są to:

1. Durak R., Dampc J., Dampc J. 2020. Role of temperature on the interaction between Japanese quince *Chaenomeles japonica* and herbivorous insect *Aphis pomi* (Hemiptera: Aphidoidea). *Environmental and Experimental Botany* 176, 104100.
2. Dampc J., Kula-Maximenko M., Molon M., Durak R. Enzymatic Defense Response of Apple Aphid *Aphis pomi* to increased temperature. 2020. *Insects* 11, 436; <https://doi.org/10.3390/insects11070436>
3. Dampc J., Mołoń T., Durak T., Durak R. 2021. Changes Aphid-Plant Interactions under Increased Temperature. *Biology* 10, 480 <https://doi.org/10.3390/biology10060480>

Każda z osób zajmujących się nauką zna procedurę recenzji i uwag redaktorskich, które poprzedzają ostateczną akceptację pracy do druku. Ms, który przeszedł przez kilka

niezależnych recenzji musi mieć wartość naukową i wносить nowe wartości dla nauki i wiedzy dotyczące konkretnego, badanego zagadnienia. Lektura publikacji mgr Jana Dampca załączonych do rozprawy doktorskiej dowiodła, że prace te mają wartość naukową i stanowią wkład w poszerzeniu wiedzy dotyczącej reakcji adaptacyjnych mszyc do wzrostu temperatury. W pracach tych Doktorant wykazał, że temperatura to główny czynnik wpływający na oddziaływanie mszyca-roślina oraz reakcje fizjologiczne, co może ograniczać rozwój mszyc (Publikacja 1, 3), ale mszyce dzięki mechanizmom enzymatycznym mogą szybko reagować na stres środowiskowy. Najważniejsze enzymy zaangażowane w neutralizację RFT i ksenobiotyków to enzymy antyoksydacyjne, detoksykacyjne i oksydoredukcyjne. Obserwuje się u mszyc dwa etapy odpowiedzi na wzrost temperatury: krótko- i długotrwały. W pierwszym etapie współpracują ze sobą enzymy antyoksydacyjne, a w drugim – detoksykacyjne i oksydoredukcyjne (Publikacja 2, 3).

Rozdział 11 Oświadczenia dotyczy wkładu Doktoranta w powstanie publikacji składających się na rozprawę. Polegał na koncepcji badań 30%, udziale w adaptacji metod do badań 60%, wykonaniu wszystkich oznaczeń w laboratorium 80%, analizie i zestawieniu wyników 50-60%, interpretacji wyników i dyskusji 50-60%, pracach nad draftem i wersji ostatecznej manuskryptu 30-40% oraz analizie bibliograficznej 100%. Współautorzy w oświadczeniu podają swój udział procentowy a biorąc pod uwagę te deklaracje należy uznać wkład Doktoranta za właściwie oszacowany.

Ogólna ocena rozprawy

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska mgra Jana Dampca prezentuje wysoki poziom naukowy, merytoryczny i edytorski i jest interesującym opracowaniem naukowym. Przypuszcza się, że zwłaszcza wzrost temperatury będzie miał duży wpływ tak na owady roślinożerne jak i ich rośliny żywicielskie, co wpisuje się w obserwowane obecnie zmiany klimatyczne. W świetle globalnego ocieplenia, które może wpływać na interakcje roślina – owad poprzez zmniejszenie reakcji obronnych rośliny na stres, co może prowadzić do wzrostu narażenia roślin na szkodniki, należy zwrócić uwagę na wysoką wartość poznawczą badań podjętych przez mgra Jana Dampca. Dodatkowo należy wziąć pod uwagę znikomą ilość w źródłach literaturowych informacji na temat potencjału biochemicznego mszyc oraz opisujących wpływ łącznego oddziaływania żerowania mszyc (stresora biotycznego) i temperatury (stresora abiotycznego) na roślinę żywicielską. Umożliwiło to opublikowanie

wyników w wysoko punktowanych czasopismach naukowych i przedstawienie w postaci otrzymanej do recenzji dysertacji. Treść poszczególnych publikacji, przeprowadzone badania i analizy wskazują na bardzo dobre opanowanie przez Doktoranta warsztatu naukowego: metod laboratoryjnych jak i analiz statystycznych. Same metody laboratoryjne były zróżnicowane i obejmowały nie tylko badanie bionomii mszyc ale również oznaczenia aktywności enzymów. Chcę podkreślić, że przeprowadzenie samych testów i zebranie odpowiedniej ilości materiału wymagało dużego zaangażowania i doświadczenia. Tak więc na podstawie przedstawionych publikacji można stwierdzić, że Doktorant wykazał się szeroką wiedzą biologiczną, statystyczną, opanowaniem różnych metod badawczych, znajomością literatury oraz umiejętnością pracy w zespole.

Podsumowanie

Podsumowując, otrzymana do oceny dysertacja mgra Jana Dampca "Reakcje adaptacyjne wybranych gatunków mszyc (Hemiptera: Aphidoidea) na wzrost temperatury" jest spójnym tematycznie zbiorem artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym o wysokich wskaźniku IF i punktacji wg listy MEiN. Odznacza się wysokim indywidualnym wkładem kandydata. Zamieszone w dysertacji publikacje stanowią oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, ważnego z punktu widzenia poznawczego. Przeważający udział Doktoranta w ich wykonaniu oraz niewielka liczba błędów i niedociągnięć potwierdza dużą wiedzę teoretyczną w dyscyplinie nauki biologiczne, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Stwierdzam, że przedstawiona do oceny dysertacja spełnia wszystkie warunki określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017, poz. 1789, ze zmianami, w związku z art. 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce – Dz. U. z 2018 poz. 1669) i wnoszę o dopuszczenie Pana mgra Jana Dampca do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Sylnie Górowska