



Olsztyn, dnia 25 marca 2022r.

Dr hab. Małgorzata Dmitryjuk, prof. UWM  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski  
Wydział Biologii i Biotechnologii  
Katedra Biochemii  
ul. Oczapowskiego 1A  
10-719 Olsztyn  
[m.dmit@uwm.edu.pl](mailto:m.dmit@uwm.edu.pl)

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgra. Michała Marcina Schulza

pt.

### **Wpływ pasożyta *Nosema ceranae* na biochemiczne mechanizmy odporności oraz zmiany morfologiczne w kluczowych tkankach matek pszczoły miodnej**

przygotowanej pod kierunkiem Promotora – dr hab. Anety Stracheckiej, profesora uczelni, Katedra Ekofizjologii Bezkręgowców i Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie i Promotora pomocniczego dra. hab. med. Macieja Grzybka, profesora uczelni, Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Podstawą wydania opinii jest pismo prof. dr hab. Brygidy Ślaskiej – Przewodniczącej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 7-go marca 2022r. (RD ZiR-530/2022) oraz dokumentacja w postaci papierowej wersji pracy doktorskiej i na płycie CD nadesłane w dniu 16-go marca 2022r.

Mgr Michał M. Schulz przedstawił do oceny rozprawę doktorską w postaci monografii pt. **"Wpływ pasożyta *Nosema ceranae* na biochemiczne mechanizmy odporności oraz zmiany morfologiczne w kluczowych tkankach matek pszczoły miodnej"**. Dobór problematyki badawczej zaproponowany przez Doktoranta wpisuje się istotnie w najnowsze trendy badań nad owadami zapylającymi. Owady te, w tym pszczoła miodna *Apis mellifera*, pełnią szereg ważnych funkcji, począwszy od utrzymania homeostazy i bioróżnorodności ekosystemów, kończąc na ogromnym znaczeniu w produkcji żywności. Pszczoła miodna jest bowiem zapylaczem około 90% roślin uprawnych i dziko rosnących, a także producentem cennych dla zdrowia człowieka produktów takich jak miód czy propolis. Zrozumiałe zaniepokojenie wywołuje obniżająca się gwałtownie liczba rodzin pszczelich w ostatnich latach spowodowana wzmożoną globalizacją oraz działaniem wielu czynników antropogenicznych i biologicznych, w tym groźnych pasożytów pszczół takich jak roztocze *Varroa destructor* czy będący przedmiotem niniejszej dysertacji grzyb z rodzaju *Nosema*. Zjawisko masowego giniecia pszczół, określanego jako CCD (Colony Collapse Disorder) jest skutkiem nakładającego się działania wielu czynników środowiskowych, które negatywnie wpływają na kondycję rodzin pszczelich. Jego przyczyny są intensywnie badane i wszystkie próby wyjaśnienia mechanizmów prawidłowego funkcjonowania rodziny pszczelej przybliżają nas do zahamowania zjawiska postępującego obniżania się liczebności pszczół.

Całość przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej liczy 149 stron. Autor podzielił pracę na 7 rozdziałów: **Przegląd piśmiennictwa**, który jest jednocześnie wstępem pracy i liczy 29 stron (str. 15–43), **Hipotezy badawcze** i **Cel pracy** zostały rozmieszczone na jednej stronie (str. 44), **Metodyka** pracy została opisana na 11 stronach (str. 45–55), rozdział **Wyniki** liczy aż 43 strony





(str. 56–98; znaczną część tego rozdziału zajmują: 2 tabele, 35 rycin w postaci wykresów i 4 ryciny ze zdjęciami), rozdział **Dyskusja** liczy 14 stron (str. 99–112). **Podsumowanie i wnioski** Autor розміścił na 2 stronach (str. 113–114), **Piśmiennictwo**, liczące ogółem 319 pozycji, obejmuje 35 stron (str. 115–149). Na wstępie pracy Autor zamieścił streszczenie w języku polskim i angielskim (po 3 strony), w którym wydzielono: Wprowadzenie, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki i wnioski oraz Słowa kluczowe. Uważam, że praca posiada właściwą pracom doktorskim strukturę i została bardzo dobrze udokumentowana czytelnymi tabelami, rycinami i bardzo dobrej jakości zdjęciami, co przy bardzo dużej liczbie przeprowadzonych doświadczeń ułatwia czytelnikowi analizowanie wyników.

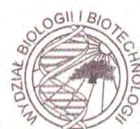
Pierwszy rozdział Dysertacji stanowi **Przegląd literatury** podzielony na siedem podrozdziałów, w którym Autor przedstawia jako pierwsze **Znaczenie pszczół miodnych dla człowieka i ekosystemu**. W kolejnym podrozdziale **Pszczoła jako organizm eusocjalny** Doktorant zwraca uwagę na cechy pszczół miodnych świadczące o najwyższym stopniu organizacji społecznej tych owadów czyli ich eusocjalności. W podrozdziale **Biologia pszczołej rodziny i rola matki** Autor charakteryzuje system kastowy w rodzinie pszczołej i podstawowe obowiązki każdej z kast, przedstawia różnice w odżywianiu robotnic i matek pszczołych, długość życia pszczół oraz wskazuje na rolę różnych gruczołów wydzielniczych w produkcji feromonów matki pszczołej odpowiadających za konsolidację, siłę i produktywność rodzin pszczołych. W podrozdziale **Zagrożenia dla pszczół** Autor skupia się na szeregu zagrożeń dla społeczności pszczołych, zarówno pochodzenia antropogenicznego, do których zalicza: 1. stosowanie pestycydów, takich jak neonicotynoidy, które stanowią globalne zagrożenie dla pszczół miodnych wpływając na liczebność rodzin pszczołych, pogorszenie aktywności lokomotorycznej pszczół, na zaburzenia płodności i reprodukcji tych owadów oraz na wzrost podatności rodzin pszczołych na choroby pasożytnicze; 2. zanieczyszczenie środowiska naturalnego toksynami będących efektem postępującej industrializacji i ekspansywnej praktyki rolniczej; 3. prowadzenie ekspansywnej gospodarki pasiecznej na niektórych terenach prowadzące do zbyt dużego zagęszczenia rodzin pszczołych na jednostkę powierzchni prowadzące do wyczerpania zapasów pokarmowych dostępnych w środowisku, jak pochodzenia biologicznego, wśród których wymienia dziesiątkujące liczebność pszczół wirusy, bakterie, grzyby, pierwotniaki, roztocza, nicienie oraz pasożytnicze owady. Pewnym niedosytem w tej części pracy jest według mnie brak informacji na temat zagadnienia zjawiska masowego giniecia pszczół (CCD), które jest problemem szeroko omawianym we współczesnej literaturze. **Dlatego prosilibym Doktoranta o przedstawienia własnego poglądu na ten temat przyczyn CCD w trakcie obrony.** Doktorant swoją szczególną uwagę we wstępie kieruje na problem nosemozy u pszczół. W podrozdziale 1.4.1 **Nosemoza – jedna z najgroźniejszych chorób pszczół** charakteryzuje pasożytnicze mikrosporydia z rodzaju *Nosema*, różnorodność gatunkową pasożyta, systematykę oraz objawy nosemozy pszczół zależne od gatunku patogena (nosemoza typu A – *N. apis*; i typu C – *N. ceranae*). Do najważniejszych objawów choroby wywołanej przez *N. ceranae* Autor wymienia zmiany behawioralne i fizjologiczne owadów (np. zaburzenia w aktywności niektórych enzymów stresu oksydacyjnego w tkankach pszczoły, których metabolizm jest skorelowany z funkcjonowaniem ciała tłuszczowego i gruczołów wydzielniczych) oraz skrócenie długości życia zarażonych pszczół. Ze względu na powyższe, Autor słusznie podsumowuje ten etap rozważań stwierdzeniem, że: "...zasadnym wydaje się dokładne zbadanie wpływu pasożyta *N. ceranae* na biochemię i morfologię gruczołów kieszonkowych a także ciała tłuszczowego u młodych matek pszczołych." Dodatkowo, Doktorant opisuje tutaj metody molekularne i mikroskopowe służące odpowiednio do identyfikacji pasożyta i stopnia porażenia pszczoły patogenem. W podrozdziale piątym **Gruczoły kieszonkowe matki pszczołej** Autor skupia się na lokalizacji wspomnianych gruczołów, ich biologicznym pochodzeniu oraz na składzie chemicznym ich wydzieliny. Jako podstawową rolę gruczołów kieszonkowych u matek pszczołych Autor wymienia wydzielanie





feromonu odpowiedzialnego za regulację rozwoju jajników u robotnic oraz wpływ na behavior pszczoł ze świty podczas lotu godowego. W kolejnym podrozdziale **Ciało tłuszczowe pszczoł – analog wątrobry u ssaków** Doktorant omawia budowę ciała tłuszczowego, rolę trofocytów i enocytów, dwóch głównych typów komórek występujących w ciele tłuszczowym pszczoły, wskazuje na jego rolę jako magazynu energii gromadzącego glikogen i triacyloglicerole oraz głównego miejsca syntezy białek odpornościowych i przeciwdrobnoustrojowych. Autor zwraca uwagę na fakt, że synteza związków odpornościowych zależy od lokalizacji/segmentu ciała tłuszczowego i w związku z tym zadaje trafne pytanie: "...czy zarodniki *Nosema spp.* w podobny sposób wpływają na metabolizm i morfologię ciała tłuszczowego w poszczególnych segmentach?" w kontekście badań własnych. W części **Przeglądu literatury** dotyczącego **Mechanizmów odporności pszczoł** Autor skupia się na specyfice odpowiedzi immunologicznej w zależności od rodzaju patogenu, kondycji i wieku pszczoły oraz poziomu rozwoju rodziny pszczelej, wskazuje na fakt, że owady nie posiadają przeciwciał a mimo to mają zdolność do specyficznej odpowiedzi immunologicznej wobec określonego patogenu dzięki tzw. pamięci immunologicznej, do której Autor zalicza aktywne fagocyty, szlak Toll/Dif oraz receptory Dscam. Obok odporności indywidualnej, do której zalicza się bariery anatomiczno-fizjologiczne oraz odporność komórkową i humoralną pszczoł, Doktorant charakteryzuje również społeczną odporność pszczoł jako zbiorowy układ odpornościowy, na który składają się odporność behawioralna: zabiegi higieniczne, wyczesywanie ektopasożytów, usuwanie martwych pszczoł z ula albo zachowania altruistyczne polegające na tym, że chora pszczoła umiera na zewnątrz ula chroniąc pozostałą społeczność przed zarażeniem, jak również regulacja temperatury w gnieździe oraz odporność sekrecyjna związana z obecnością w produktach pszczelich (takich jak mleczko pszczele, propolis, miód, pyłek pszczeli, wosk oraz nektar) i wydzielinach pszczoł – związków o aktywności przeciwdrobnoustrojowej. W podrozdziale 1.7.1 **System proteolityczny** autor przedstawia charakterystykę systemu proteolitycznego pszczoł, którego elementy znajdują się zarówno na powierzchni, jak wewnątrz ciała pszczoły (w hemolimfie, przewodzie pokarmowym, ciele tłuszczowym oraz gruczołach kieszonkowych). Autor wymienia dotychczas wykryte aktywne elementy enzymatycznego systemu proteolitycznego pszczoł miodnych – proteazy serynowe, cysteinowe i asparaginianowe oraz metaloproteazy (EC 3.4.21–24) i inhibitory proteaz wskazując na istotny fakt zmienności systemu proteolitycznego pszczoł wraz z porą roku, stopniem zanieczyszczenia środowiska, rozwojem osobniczym oraz stanem fizjologicznym. Ze względu na powyższe Autor trafnie stwierdza, że: "...szczególnie interesujące jest czy aktywność systemu proteolitycznego zmienia się w gruczołach kieszonkowych i ciele tłuszczowym w trzech lokalizacjach (sternitów, tergitu trzeciego i piątego) u matek pszczelich pod wpływem pasożyta *N. ceranae*." Dobrym podsumowaniem rozważań na temat mechanizmów odporności pszczoł Autor przedstawia na Ryc. 3. Chociaż niektóre elementy przedstawionego schematu nie zostały objaśnione w tekście np. odporność humoralna, to schemat dobrze obrazuje powiązania mechanizmów układu obronnego pszczoł na różnych płaszczyznach jego aktywności.

W kolejnych podrozdziałach na podstawie zgromadzonych źródeł, po krótkim wstępie na temat działania systemu antyoksydacyjnego, Autor omawia zasadność oznaczania **Całkowitego potencjału antyoksydacyjnego – TAC** u matek pszczelich zarażonych *N. ceranae*, a następnie przybliża rolę **dysmutazy ponadtlenkowej (SOD)** w wymiataniu rodnika ponadtlenkowego, rolę **katalazy (CAT)** w dysproporcjonowaniu nadtlenu wodoru  $H_2O_2$ , katalityczną funkcję **S-transferazy glutationowej (GST)** - degradującej nadtlenuki przez redukcje glutationu oraz detoksykującą związki endogenne i ksenobiotyczne oraz **peroksydazy glutationowej (GPx)**, która uczestniczy w redukcji nadtlenuków organicznych z wykorzystaniem zredukowanego glutationu. W kolejnym podrozdziale **Związki wspomagające mechanizmy odporności pszczoł** Doktorant omawia rolę **ATPazy** jako biochemicznego





wskaźnika ogólnego stanu organizmu w odpowiedzi na niekorzystne warunki środowiskowe oraz znaczenie węglowodanów **glukozy** i **glikogenu**, jak również **tricylogliceroli**, jako głównych źródeł energii dla pszczół. Na koniec podrozdziału Autor skupia się na roli **aminotransferaz alaninowej (ALT)** i **asparaginianowej (AST)** oraz **fosfatazy zasadowej (ALP)** jako biomarkerów odwzorowujących stan ciała tłuszczowego i statusu odporności owada.

Reasumując, dobór informacji przytoczonych w **Przeglądzie literatury** świadczy o wnikliwej znajomości problematyki badawczej Doktoranta. Bardzo dobra znajomość literatury przedmiotu i umiejętność syntetycznego przekazania zdobytej wiedzy świadczy o przygotowaniu Autora do podjęcia niniejszych badań.

W rozdziale 2 Dysertacji Doktorant zaproponował cztery **Hipotezy badawcze**. Moim zdaniem, hipotezy te wyraźnie wytyczają kierunek badań, a ich empiryczna weryfikacja umożliwiła mgr. Michałowi M. Schulzowi realizację założonych celów.

Rozdział **Metodyka** podzielony został na **Część pasieczną**, która została wykonana w stacji Dydaktyczno-Badawczej zwierząt drobnych im. Laury Kaufman, należącej do Instytutu Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie oraz **Część laboratoryjną**, realizowaną w Laboratorium Biologii Molekularnej Uniwersytetu Przyrodniczego i Pracowni Mikroskopowej Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Obie części badań prowadzono równolegle w latach 2017-2020.

W części pasiecznej Autor pozyskał 120 jednodniowych i 120 ośmiodniowych matek pszczelich podgatunku *A. mellifera carnica* do analiz laboratoryjnych. Doktorant zaznaczył, że matki wychowywano z larw wygryzionych z jaj złożonych przez matkę reprodukcyjną sztucznie inseminowaną. Zastosowana procedura wychowu matek została dokładnie opisana i wymagała od Doktoranta dużych umiejętności i wiedzy na temat hodowli i funkcjonowania rodziny pszczelej, jej biologii i behawioru. Mnogość pobranych prób i wykonanych powtórzeń świadczy natomiast o rzetelności i wiarygodności przeprowadzonych eksperymentów. Na początku części laboratoryjnej badań, pozyskane w części pasiecznej matki kwalifikowano do grup o różnym stopniu zarażenia. Od matek zarówno 1- jak 8-dniowych wypreparowano ciało tłuszczowe, gruczoły kieszonkowe i przewód pokarmowy. Następnie, przewody pokarmowe pszczół poddano badaniu mikroskopowemu na obecność zarodników *Nosema* spp. oraz wyizolowano z nich DNA, które posłużyło jako matryca do amplifikacji fragmentów genów charakterystycznych dla *N. ceranae* i *N. apis*. W wyniku tych analiz Doktorant wykazał, że wszystkie matki 1-dniowe były zdrowe a matki 8-dniowe sklasyfikował do dwóch grup: wolnych od pasożyta i zarażonych *N. ceranae* (*N. apis* nie stwierdził). Autor podał w pracy sekwencje zastosowanych primerów ale nie podał wielkości uzyskiwanego produktu i nazwy genu, którego sekwencja była podstawą do rozróżnienia gatunków pasożyta. **Czy docelowo był to fragment genu 16S rRNA charakterystyczny dla określonego mikrosporydium i jakiej wielkości produkt był amplifikowany?** Wypreparowane komórki ciała tłuszczowego z III i V tergitu i ze sternitu, oraz z gruczołów kieszonkowych podzielono na dwie części wykorzystywane do analiz mikroskopowych i biochemicznych. W supernatantach z ciała tłuszczowego i gruczołów kieszonkowych oznaczono stężenie białka ogólnego, aktywność enzymów proteolitycznych i ich inhibitorów, poziom całkowitego potencjału antyoksydacyjnego, aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, S-transferazy i peroksydazy glutationowej, ATPazy oraz aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej i fosfatazy zasadowej, jak również stężenie glukozy, glikogenu i triacylogliceroli.

W części laboratoryjnej Doktorant sprawnie posługuje się szerokim wachlarzem metod biochemicznych jak oznaczenie stężenia białka ogólnego metodą Lowry'ego i in. (1951) czy oznaczenie aktywności proteolitycznej wobec różnych substratów i inhibitorów. **W tej części pracy nie znalazłam jednak informacji w jaki sposób sporządzano krzywą standardową dla białka i co stanowiło standard**





**białka, najczęściej stosowana BSA czy może inne białko?** W części metodycznej brakuje według mnie definicji jednostek aktywności w przypadku każdego enzymu, którą Autor posługuje się w rozdziale **Wyniki**. W pracy pojawiają się jednostki: "U/mg", "mU/mg", "mMol/l" oraz "U/l". Większość oznaczeń była wykonana za pomocą kitów komercyjnych ale mimo wszystko dobrze by było podczas przygotowywania pracy do druku doprecyzować kwestie jednostek aktywności. **W związku z tym bardzo bym prosiła Doktoranta o przedstawienie w autoreferacie albo podczas odpowiedzi na recenzję, w jaki sposób wyrażano aktywność inhibitorów enzymów proteolitycznych i co było miarą aktywności analizowanych w pracy aminotransferaz, ATPazy, proteaz i enzymów antyoksydacyjnych? Dodatkowo, w jakich jednostkach było wyrażane stężenie glukozy, glikogenu i triacylogliceroli?**

Rozdział **Wyniki** w bardzo syntetyczny i w nieprzeładowany sposób przedstawia uzyskane wyniki badań, które są pogrupowane w poszczególnych tabelach i zobrazowane estetycznymi i czytelnymi kolorowymi rycinami z uwzględnieniem wyników analizy statystycznej, co znacznie ułatwia analizę tekstu. W tej części pracy zwraca uwagę rzetelna dokumentacja fotograficzna komórek gruczołów kieszonkowych oraz ciała tłuszczowego u matek 1- i 8-dniowych oraz dokładne podsumowanie zachodzących w tych komórkach zmian w odpowiednich tabelach. Na podkreślenie zasługuje również fakt mnogości oznaczeń różnych parametrów biochemicznych, które świadczą o dużej wszechstronności Doktoranta.

W rozdziale **Dyskusja** Autor umiejętnie dyskutuje wyniki własnych badań na tle licznych doniesień literaturowych w odpowiednich podrozdziałach. Przebieg Dyskusji jest uporządkowany i merytoryczny. Jest to kolejny dowód na to, że Doktorant jest dojrzałym i wnikliwym pracownikiem naukowym.

W rozdziale **Podsumowanie i wnioski** Autor przedstawionej do oceny Dysertacji zwraca uwagę na to, że uzyskane wyniki uzupełnione o wyniki publikacji innych autorów, mogą stanowić podstawę do lepszego zrozumienia mechanizmów zachodzących w organizmach pszczoł podczas zarażenia *N. ceranae*. Zdaniem Autora i moim również: "...wyniki tej dysertacji mogą przyczynić się do opracowania skutecznych metod leczniczych i diagnostycznych". Na zakończenie pracy Doktorant przedstawia siedem prawidłowo sformułowanych wniosków. W pierwszym podkreśla, że ciało tłuszczowe u pszczoł miodnych jest tkanką niejednorodną i poszczególne jego części różnią się morfologicznie i funkcjonalnie. W drugim wniosku Autor zwraca uwagę na fakt, że zarażenie matek pszczelich przez *N. ceranae* jest powodem destrukcji i dysfunkcji ciała tłuszczowego i gruczołów kieszonkowych czego dowodem jest zmniejszenie rozmiarów komórek obu tkanek, obecność ziarnistości, grudek melanotycznych, nieregularnych jąder komórkowych i przestworów między komórkami. Dalej (we wniosku trzecim), zdaniem Autora, zmniejszenie zasobów energetycznych i obniżenie aktywności ATPazy u matek zarażonych pasożytem "...jest przyczyną silnego stresu energetycznego, zachwiania homeostazy, a w konsekwencji zaburzeń w termoregulacji organizmu." W kolejnym wniosku (wniosek nr 4) Doktorant trafnie podkreśla, że patologiczne zmiany w aktywności proteaz i ich inhibitorów w gruczołach kieszonkowych i różnych lokalizacjach ciała tłuszczowego spowodowane zarażeniem *N. ceranae* świadczy o stresogennym wpływie pasożyta już na młode matki. Z kolei (wniosek nr 5), obniżenie stężenia białka w tergicie trzecim ciała tłuszczowego u zarażonych matek może świadczyć, zdaniem Autora "...o zahamowaniu translacji białek (np. białek odpornościowych oraz witellogeniny) i jest pierwszym etapem w zaburzeniu wielu kaskadowych procesów metabolicznych, których skutki są najprawdopodobniej widoczne u starszych matek." We wniosku szóstym, który moim zdaniem jest najważniejszym wnioskiem z przeprowadzonych przez Doktoranta badań, Autor podkreśla, że pasożyt *N. ceranae* doprowadza do stresu oksydacyjnego zaburzając działanie enzymów oksydacyjnych w gruczołach kieszonkowych i w poszczególnych częściach ciała tłuszczowego, "...co najprawdopodobniej przekłada się na potencjał rozrodczy, pozycję matki w rodzinie pszczelej i obniża jej





wartość użytkową." W moim przekonaniu wyniki badań nad stresem oksydacyjnym wywołanym *N. ceranae*, które doprowadziły do sformułowania wniosku szóstego są największym osiągnięciem tej pracy doktorskiej. **W związku z tym chciałabym poprosić Doktoranta w trakcie obrony o odpowiedź na pytanie: Czy Jego zdaniem, suplementacja antyoksydantami drobnocząsteczkowymi pszczół zarażonych *N. ceranae* mogłaby przyczynić się do poprawy ich statusu antyoksydacyjnego?**

Dodatkowo, we wniosku ostatnim (wniosek nr 7) Autor podkreśla, że obniżenie aktywności aminotransferaz i fosfatazy zasadowej w gruczołach kieszonkowych matek świadczy o stanie chorobowym zarażonych pszczół.

Mając na uwadze to, że praca będzie przygotowywana do druku, chciałabym zwrócić uwagę Autora na to, że powinien zdefiniować jednostki aktywności enzymatycznej, o czym wspominałam już wcześniej, oraz ujednolicić stosowane skróty, np. na str.70, Ryc. 19. używa skrótu "mM/l" a na str. 78 Ryc. 27.: "mmol/l". Obie formy są poprawne i stosowane w publikacjach naukowych ale wskazane jest używanie jednej formy w całej pracy. Dodatkowo, na Ryc. 24 (str. 75) brak jest jednostek aktywności ATPazy a na Ryc. 25 (str. 76) podane jednostki są niepoprawne, prawdopodobnie na skutek błędu literowego. Autor używa w pracy nazwy "triglicerydy" co nie jest błędem zważywszy, że w literaturze przedmiotu, z której korzystał Doktorant, autorzy publikacji używają tej samej nazwy. Chciałabym jednak zwrócić uwagę, że Komisja Nomenklatury Biochemicznej zaleca stosowanie nazw "mono-, di- i triacyloglicerole" zamiast "mono-, di- i triglicerydy". Według Komisji dawne nazwy były mylące ze względu na to, że nazwa "trigliceryd" wskazywać może na obecność w cząsteczce nie trzech reszt acylowych, lecz trzech reszt glicerolu. Chciałabym jednak podkreślić jeszcze raz, że nie jest to błąd tylko ewentualne zalecenie. Dodatkowo, chociaż praca napisana jest poprawnym językiem, to znajdują się w niej nieliczne błędy natury redakcyjnej, co z pewnością zostanie skorygowane przez Autora podczas przygotowaniu tekstu do publikacji.

Wyżej wymienione uwagi i sugestie nie umniejszają wartości merytorycznej niniejszej dysertacji oraz bardzo wysokiej oceny, jaką z pełną odpowiedzialnością stawiam pracy doktorskiej Pana mgra. Michała Schulza.

W świetle wszystkich powyższych argumentów stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji Dysertacja doktorska Pana mgra. Michała Marcina Schulza wnosi znaczący wkład w rozwój dyscypliny i odpowiada warunkom określonym w art. 13 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, i może być podstawą do nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo, w postępowaniu prowadzonym na podstawie Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1 789 ze zm.), w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – przepisy wprowadzające Ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 ze zm. W Dz. U. z 22 marca 2019 r. poz. 534). **W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgra. Michała Marcina Schulza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Praca charakteryzuje się dużą wartością poznawczą, szerokim zakresem badań i wykorzystanych metod badawczych oraz wpisuje się we współczesny nurt badań nad pszczołami. Mimo różnorodności użytych metod i mnogości uzyskanych wyników, praca napisana jest poprawnym językiem i posiada uporządkowaną strukturę. Świadczy to o dużej dojrzałości, samodzielności naukowej i badawczej Doktoranta zarówno w części pasiecznej jak i laboratoryjnej eksperymentu, dobrego przygotowania metodycznego oraz pracowitości i rzetelności Badacza.

**Biorąc pod uwagę powyższe przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo wniosek o wyróżnienie niniejszej dysertacji doktorskiej stosowną nagrodą.**

