

**Dr hab. Beata Madras-Majewska, prof. SGGW**

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Instytut Nauk o Zwierzętach

Samodzielna Pracownia Pszczelnictwa

ul. Nowoursynowska 166

02-787 Warszawa

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Michała Marcina Schulza

pt. „**Wpływ pasożyta *Nosema ceranae* na biochemiczne mechanizmy odporności oraz zmiany morfologiczne w kluczowych tkankach matek pszczoły miodnej**”

przygotowanej pod kierunkiem naukowym

Promotora Pani **dr hab. Anety Stracheckiej, profesora uczelni**, Katedra Ekofizjologii Bezkręgowców i Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Promotora pomocniczego Pana **dr. 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 Zootechniki 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 18-go marca 2022r.

### 1. Trafność wybranej tematyki

Rozprawa doktorska Pana mgr inż. Michała M. Schulza dotyczy interesującego i istotnego pod względem naukowym jak i praktycznym zagadnienia, jakim jest ocena wpływu pasożyta *Nosema ceranae* na biochemiczne mechanizmy odporności oraz zmiany morfologiczne w kluczowych tkankach matek pszczoły miodnej. *Apis mellifera* L., pełniąc funkcje zapylacza, stanowi niezwykle ważny element ekosystemu. Zapewniając przetrwanie wielu gatunkom roślin i zwierząt, odgrywa ważną rolę w utrzymaniu bioróżnorodności, homeostazy ekosystemu oraz produkcji żywności. Ekspansywna eksploatacja środowiska naturalnego przez człowieka spowodowała powstawanie niekorzystnych i szkodliwych dla egzystencji pszczoł zmian w skutek, których ten pożyteczny owad jest obecnie zagrożony wyginieciem. Głównymi czynnikami mającymi wpływ na ten stan rzeczy są przede wszystkim: zmiany klimatyczne, drastyczny spadek liczby gatunków roślin miododajnych, monokultury, środki ochrony roślin, patogeny czy pasożyty. Wprawdzie znanych jest wiele różnych czynników o niepożądanym oddziaływaniu na *Apis mellifera* L., ale za jedną z najpoważniejszych przyczyn istniejących zagrożeń naukowcy uważają zespół masowego ginięcia pszczoły miodnej, określane jako CCD (ang. *Colony Collapse Disorder*). CCD jest przedmiotem badań wielu naukowców i niejednokrotnie poruszaną tematyką w literaturze fachowej oraz popularnonaukowej. Jest to zjawisko o nieokreślonej, najprawdopodobniej wieloczynnikowej etiologii. Jedną ze składowych tego zjawiska jest rozprzestrzenianie się pomiędzy rodzinami

pszczelimi zakażenia pasożytniczym grzybem z rodzaju *Nosema* (będącego przedmiotem niniejszej dysertacji). W dobie masowego wymierania pszczół kluczowego znaczenia nabiera więc potrzeba dokładnego poznania mechanizmów odporności tych owadów. Jednocześnie należy pamiętać, że prawidłowy rozwój i przetrwanie rodziny pszczelej ściśle zależy od kondycji, siły, witalności i potencjału reprodukcyjnego matek *A. mellifera*.

Dlatego też uważam podjęty temat badań przez Pana mgr inż. Michała M. Schulza za ważny i przydatny pod względem poznawczym. Na wstępie stwierdzić należy także, iż zakres pracy eksperymentalnej oraz treść dysertacji w pełni odpowiadają przyjętemu tematowi ocenianej rozprawy doktorskiej. Tematyka pracy jest nowatorska, a połączenie badań morfologicznych i biochemicznych, umożliwiające kompleksową ocenę stanu fizjologicznego matki jest niezwykle ważne ze względu na znaczenie jakie ma to dla prawidłowego funkcjonowania organizmu tego cennego owada. A to w konsekwencji przekłada się na określenie jej przydatności w rodzinie pszczelej.

## **2. Ocena formalnej strony pracy**

Całość przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej liczy 149 stron. Doktorant podzielił część merytoryczną pracy na 7 następujących rozdziałów: na wprowadzenie, czyli przegląd piśmiennictwa przypada 29 str., hipotezy badawcze i cel pracy 1 str., na rozdział metodyka 11 str., rozdział wyniki liczy 43 str., dyskusja 14 str., podsumowanie i wnioski 2 str., piśmiennictwo 35 str. oraz po 3 str. streszczenia w języku polskim i angielskim. Dokonanie takiego podziału dysertacji wskazuje na poprawny i zgodny z obowiązującym modelem przyjętym dla empirycznych prac badawczych. Układ pracy nie budzi zastrzeżeń. Dysertacja zawiera 2 tabele, 35 rycin w postaci wykresów oraz 4 rycin będących fotografiami.

W pracy wykorzystano aż 319 naukowych pozycji bibliograficznych. Na podkreślenie zasługuje fakt, że w literaturze naukowej 86% (273 pozycji) to publikacje o zasięgu międzynarodowym w języku angielskim, co świadczy o umiejętności wykorzystania przez Autora rozprawy bogatej literatury przedmiotu. Najnowsze publikacje, wydane w okresie ostatnich 5-6 lat (od 2017 roku), stanowią 30% (97 pozycji) pozycji bibliograficznych, wykorzystanych w dysertacji, co przy obecnej wysokiej dynamice rozwoju nauki jest w pełni zadowalającym wskaźnikiem. Pod względem jakościowym, literatura jest dobrana prawidłowo, stosownie do omawianego tematu. Ponadto jest bardzo zróżnicowana, a wiele artykułów pochodzi z renomowanych czasopism/wydawnictw zarówno polskich jak i zagranicznych.

## **3. Ocena wartości merytorycznej pracy**

Przedstawiony w dysertacji starannie przygotowany rozdział „Przegląd literatury” został podzielony na siedem tematycznych podrozdziałów. W oparciu o piśmiennictwo Pan mgr inż. Michał M. Schulz w przystępny sposób przedstawił zainteresowanym znaczenie pszczół miodnych zarówno dla człowieka jak i ekosystemów. Zwracając uwagę na bogactwo różnorodność gatunków/rodzajów pszczół Doktorant podkreślił niezbędną rolę tych owadów, jaką odgrywają dla zachowania równowagi i prawidłowego funkcjonowania ekosystemów. Autor uwzględnił również informacje dotyczące ekonomicznej wartości zapyłania przez owady pszczołowe, a także znaczenia pszczół dla środowiska przyrodniczego, rolnictwa, ekosystemów miejskich oraz jako „producentów” produktów pszczelich stosowanych w apiterapii. Następnie Pan mgr inż. Michał M. Schulz zwrócił uwagę na pszczołę jako organizm eusocjalny. Doktorant poświęcił również część przeglądu literatury zagadnieniom dotyczącym biologii rodziny pszczelej i roli matki, opisując system kastowy rodziny pszczelej, liczebność oraz funkcje każdej z kast. Doktorant zwrócił uwagę na różnice istniejące między dwoma typami samic tzn. matką a pszczołą robotnicą zarówno pod względem anatomicznym jak i fizjologicznym. Podkreślił ważną rolę sposobu odżywiania

larw samic, który determinuje długość czasu rozwoju larw, a także ukształtowanie się częściowego (pszczoły robotnice) lub całkowitego (matki pszczele) układu rozrodczego samicy. Dodatkowo zwrócił uwagę na kluczowe parametry odpowiadające za konsolidację, siłę i produktywność rodzin pszczelich, czyli aktywność reprodukcyjną matki oraz stężenie produkowanych przez nią hormonów, wytwarzanych w różnych gruczołach wydzielniczych. W części przeglądu literatury, dotyczącego istniejących zagrożeń dla pszczół, Autor uwzględnił szereg zagrożeń zarówno pochodzenia antropogenicznego, tj. pestycydy (głównie neonikotynoidy), zanieczyszczenia, degradacja środowiska i krajobrazu, jak i biologicznego, do których zalicza się: wirusy, bakterie, grzyby, pierwotniaki, roztocza, nicienie oraz pasożytnicze owady. Następnie Pan mgr inż. Michał M. Schulz skupił swoją uwagę na bardzo ważnym i aktualnym problemie dotyczącym hodowli/utrzymania pszczół, czyli nosemozie – jednej z najgroźniejszych chorób pszczół. Doktorant starannie opisał, sposoby i przyczyny rozprzestrzeniania się tej choroby na świecie. Zamieścił cenne informacje na temat podobieństw i różnic pomiędzy gatunkami *N. ceranae* i *N. apis*, dotyczące między innymi morfologii zarodników, odporności na warunki pozakomórkowe, jak i przebiegu infekcji. W oparciu o piśmiennictwo Doktorant scharakteryzował gatunek *N. ceranae*, jako groźniejszy powodujący zmiany zarówno behawioralne, fizjologiczne jak i skrócenie długość życia u wszystkich trzech kast pszczół miodnych a zwłaszcza młodych matek. Dodatkowo zwrócił uwagę, że metabolizm niektórych tkanek jest skorelowany z funkcjonowaniem ciała tłuszczowego i gruczołów wydzielniczych. Autor poświęcił część przeglądu literatury, dokładnie charakteryzując gruczoły kieszonkowe matek pszczelich oraz ciało tłuszczowe pszczół, czyli tkanek kluczowych dla wytworzenia biochemicznych barier obronnych organizmu. Doktorant opisał budowę, rolę i lokalizację ww. tkanek z podkreśleniem znaczenia lokalizacji/segmentu ciała tłuszczowego na syntezę związków odpornościowych. Dużą część przeglądu literatury Pan mgr inż. Michał M. Schulz poświęcił pracom dotyczącym mechanizmów odporności pszczół, w której bardzo dokładnie scharakteryzował: odporność indywidualną badanego gatunku owada, odporność społeczną pszczół oraz odporność sekrecyjną. Autor opisał również tzw. pamięć immunologiczną (aktywne fagocyty, szlak Toll/Dif, receptory Dscam) umożliwiającą pszczołom zdolność do specyficznej odpowiedzi immunologicznej wobec określonego patogenu. Następnie Doktorant skoncentrował się na charakterystyce systemu proteolitycznego pszczół zwracając uwagę na zmienność tego systemu u pszczół oraz dużą zależność aktywności systemu (u matek pszczelich i robotnic) od pory roku, stopnia zanieczyszczenia środowiska, rozwoju osobniczego oraz stanu fizjologicznego organizmu. Pan mgr inż. Michał M. Schulz opisał także działania systemu antyoksydacyjnego i uzasadnia sensowność oznaczania całkowitego potencjału antyoksydacyjnego TAC u matek pszczelich zarażonych *N. ceranae*. Autor poświęcił również część przeglądu literatury na cytowanie prac dokładnie charakteryzujących aktywność: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), transferazy glutationowej – GST, peroksydazy glutationowej (GPx) a także opisujących rolę związków wspomagających mechanizmy odporności pszczół (aktywność ATPazy, stężenie glukozy, stężenie glikogenu, stężenie aminotransferazy alaninowej (ALT), fosfatazy zasadowej (ALP), aminotransferazy asparaginianowej (AST).

Ze względu na powyższe, Autor słusznie uważa „za zasadne dokładne zbadanie wpływu pasożyta *N. ceranae* na biochemię i morfologię gruczołów kieszonkowych a także ciała tłuszczowego u młodych matek pszczelich.” Szczególnie interesujące było dla Niego uzyskanie odpowiedzi na pytanie - „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*” Ze względu na fakt, iż dotychczas nie ma do niesień w światowej literaturze, aby zostały przeprowadzone dokładne badania nad wpływem *N. ceranae* na system antyoksydacyjny pszczoły, szczególnie

u matek w kluczowych dla niej tkankach, Pan mgr inż. Michał M. Schulz słusznie postanowił zgłębić to zagadnienie.

Z zadowoleniem stwierdzam, że cytowane w rozdziale „Przegląd literatury” artykuły to w większości oryginalne prace naukowe, opublikowane w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Na podkreślenie zasługuje umiejętność wykorzystywania przez Doktoranta najnowszej literatury przedmiotu i liczne odwołania do badań światowych w podjętej tematyce. Potwierdza to po raz kolejny dobre przygotowanie Pana mgr inż. Michała M. Schulza do podjętego tematu badawczego.

*Hipotezy badawcze*, oprócz celów badawczych, wydają się stanowić najważniejszy punkt odniesienia w dokonywaniu oceny wartości naukowej pracy. Na podkreślenie zasługują bardzo dobrze zdefiniowane cztery hipotezy badawcze oraz poprawność i kompletność wyznaczonych celów. Uważam, iż w kontekście problemu badawczego i celów rozprawy wszystkie hipotezy są powiązane ze sobą logicznie. Wyraźnie wytyczyły one kierunek i zakres badań, a ich empiryczna weryfikacja umożliwiła Doktorantowi realizację założonych celów badawczych.

Z rozdziału „Metodyka” wynika, że Autor prowadził swoje doświadczenie w ciągu czterech lat (2017-2020), a badania można podzielić na dwie części: pasieczną i laboratoryjną. Pan mgr inż. Michał M. Schulz posłużył się licznym materiałem badawczym wykorzystując w doświadczeniu 120 jednodniowych i 120 ośmiodniowych nieunasienionych matek pszczelich podgatunku *Apis mellifera carnica*. Na podkreślenie zasługuje rzeczowo opisana przez Doktoranta procedura pozyskiwania ww. matek pszczelich, a także tworzenia rodzin do otrzymywania matek ośmiodniowych. Świadczy to o ugruntowanej wiedzy Pana mgr inż. Michała M. Schulza na temat biologii rodziny pszczoły i zdobytym doświadczeniu w zakresie hodowli matek pszczelich. W części laboratoryjnej w pierwszej kolejności kwalifikowano matki do grup o różnym stopniu zarażenia. Pobrano komórki ciała tłuszczowego, gruczołów kieszonkowych oraz przewodu pokarmowego z każdej matki. Przewód pokarmowy każdego badanego owada został poddany badaniu mikroskopowemu w kierunku stwierdzenia obecności w nim zarodników *Nosema spp.* Rozciery zamrażano na potrzeby analiz genetycznych, w których określono przynależność gatunkową zarodników *Nosema spp.* DNA wyizolowano za pomocą kitu Qiagen, wg. procedury podanej przez producenta i zmodyfikowanej przez Ptaszyńska i in. (2014). Następnie przeprowadzono analizy PCR z wykorzystaniem specyficznych gatunkowo starterów. Z wypreparowanych komórek ciała tłuszczowego z III i V tergitu i ze sternitu oraz gruczołów kieszonkowych przygotowano preparaty mikroskopowe do analizy cech morfologicznych tkanek. Ww. tkanki wykorzystano również do analiz biochemicznych. W supernatantach z ciała tłuszczowego i gruczołów kieszonkowych oznaczono stężenie białka ogólnego, aktywność enzymów proteolitycznych i ich inhibitorów, poziom całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (TAC), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), S-transferazy glutationowej (GST), peroksydazy glutationowej (GPx), ATPazy oraz aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej (ALT i AST) i fosfatazy zasadowej (ALP), jak również stężenie glukozy, glikogenu i triacylogliceroli.

Metody pobierania i przygotowania materiału biologicznego oraz analiz opisano niezwykle szczegółowo, co może świadczyć o samodzielnym wykonaniu badań, zarówno laboratoryjnych jak i pasiecznych przez Pana mgr inż. Michała M. Schulza. Natomiast liczba przeprowadzonych oznaczeń biochemicznych świadczy z kolei o wielkim wyzwaniu jakiego się podjął. Podołanie tym zadaniom wymagało od Autora nie tylko ogromnego nakładu pracy i determinacji, ale także takich cech jak dokładność, sumienność i staranność przy wykonywaniu pracy. Wymagało to od Pana mgr Michała M. Schulza przede wszystkim ugruntowanej wiedzy, koniecznej do dokonania doboru odpowiedniego sprzętu, materiałów i

technik w celu uzyskania wyników badań jak najwyższej jakości. Stwierdzam, że Autor pracy jest dojrzałym i wytrawnym analitykiem. Oceniając pracę należy podkreślić, że metody zastosowane w badaniach zostały przemyślane i właściwie dobrane, dzięki czemu umożliwiły przeprowadzenie interesujących, nowatorskich eksperymentów na matkach pszczelich. Sposób przedstawienia metodyki badań w niniejszej dysertacji można stanowić dobry przykład i wzór opisywania metod badań o zbliżonej tematyce.

Rozdział „Wyniki” został podzielony na pięć podrozdziałów. Podziału dokonano zgodnie z zakładanymi kierunkami badawczymi. Wyniki badań Doktorant przedstawił w tabelach i rycinach w postaci wykresów z uwzględnieniem wyników analizy statystycznej, które są jasno i przejrzysto zaprezentowane ze zrozumiale sformułowanymi tytułami. Zarówno wyniki badań przedstawione w tabelach, jak i na rycinach swą szatą graficzną uatrakcyjnają pracę i powodują, że wyniki są łatwiejsze do oceny, interpretacji i dokonania porównań. Pan mgr inż. Michał M. Schulz wykazał się umiejętnością poprawnego i przekonującego przedstawienia uzyskanych przez niego wyników badań.

Rozdział „Dyskusja” został podzielony na 3 podrozdziały zgodnie z zakładanymi kierunkami badawczymi, dzięki czemu opracowanie tej niezwykle ważnej części pracy jest przejrzyste i jasne. Doktorant trafnie wybrał pozycje literatury do konfrontacji z wynikami jakie otrzymał przeprowadzając swoje doświadczenia. Autor dysertacji opanował, więc dobrze zarówno warsztat badawczy, jak i umiejętności interpretacji uzyskanych wyników. Wszystko to świadczy o tym, iż Pan mgr Michał M. Schulz jest sumiennym i dostatecznie ukształtowanym naukowcem.

Na podstawie badań wyciągniętych zostało 7 trafnych i prawidłowo sformułowanych wniosków, z których moim zdaniem wnioski nr 4 i 6 są szczególnie cenne.

Wniosek 4. Wysokie aktywności proteaz kwaśnych i obojętnych oraz niskie proteaz zasadowych w gruczołach kieszonkowych i różnych lokalizacjach ciała tłuszczowego świadczą o zaburzeniu procesów proteolitycznych i innych metabolicznych oraz o stresogennym wpływie *N. ceranae* na matki. Wysokie aktywności inhibitorów proteaz (kwaśnych, obojętnych i zasadowych) w gruczołach kieszonkowych potwierdzają stan patologiczny już w młodym wieku matki.

Wniosek 6. *N. ceranae* doprowadza do stresu oksydacyjnego i zaburza prawidłowe działanie enzymów antyoksydacyjnych poprzez obniżenie aktywności katalazy, S-transferazy glutationowej i peroksydazy glutationowej w gruczołach kieszonkowych i w ciele tłuszczowym (w poszczególnych lokalizacjach), co najprawdopodobniej przekłada się na potencjał rozrodczy, pozycję matki w rodzinie pszczelej i obniża jej wartość użytkową.

#### 4. Uwagi krytyczne

- Praca napisana jest poprawnym językiem polskim. Niepotrzebne powtórzenia, nietrafne sformułowania oraz wszystkie uwagi dotyczące literówek, interpunkcji i stylistyki znajdujące się na str. 10, 28, 29, 31, 36, 64, 100, 103, 104, 108, 110, 111, 112 naniesiono bezpośrednio w egzemplarzu pracy. Poprawiony egzemplarz dysertacji przekazano Doktorantowi.
- Nazwa podrozdziału 1.3 zatytułowanego w pracy, jako „Biologia pszczelej rodziny i rola matki” powinna brzmieć „Biologia rodziny pszczelej i rola matki”.
- W pracy przy nazwie łacińskiej pszczoły miodnej - niekiedy (str. 9, 12), Doktorant zastosował niepełną nazwę bez skrótu literowego badacza tzn. *Apis mellifera*, zamiast *Apis mellifera* L.

-Bardzo proszę o podanie nazwy genu który badano, aby stwierdzić przynależność gatunkową zarodników *Nosema spp.*

-Podpisy umieszczone w pracy pod rycinami ze zdjęciami (Ryc. 8-11) są niekompletne, gdyż brakuje informacji na temat skali w opisach, którą powinno się podawać ewentualnie informacji dotyczącej rzędu powiększeń przy zdjęciach. Analizowaną cechą jaką jest wielkość komórek widocznych w obrazie morfologicznym komórek gruczołów kieszonkowych i ciała tłuszczowego u matek ośmiodniowych zdrowych i zarażonych *N. ceranae*, które w pracy określone zostały jako „duże”/”małe” lub „duże wszystkie podobnej wielkości”/”małe zróżnicowana wielkość” bez widocznej skali na zdjęciach mikroskopowych, co jest mało precyzyjne.

- W pracy nie określono dokładnie sposobu przedstawienia jednostek aktywności: inhibitorów enzymów proteolitycznych, aminotransferaz, ATPazy, proteaz i enzymów antyoksydacyjnych. Przykładowo na Ryc. 15-18 dotyczących aktywności proteaz i inhibitorów proteaz użyto jednostki [U/mg]. Z kolei na Ryc. 23 i 39, dotyczących aktywności peroksydazy glutationowej zastosowano jednostkę [mU/mg], a aktywność aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej (ALT i AST) i fosfatazy zasadowej (ALP) (Ryc. 44 – 46) wyrażono jednostką [U/l]. Doktorantowi zdarza się również nie uwzględniać jednostek niektórych parametrów np.

na str. 75 - Ryc. 24. pt. „Aktywność ATPazy w komórkach gruczołu kieszonkowego zdrowych jedno- i ośmiodniowych oraz ośmiodniowych zarażonych *N. ceranae* matek pszczoły miodnej.”

na str. 92 - Ryc. 40. pt. „Aktywność ATPaz w supernatancie komórek ciała tłuszczowego matek zdrowych jedno- i ośmiodniowych oraz ośmiodniowych zarażonych *N. ceranae* z podziałem na sternit, tergit III oraz tergit V.”

na str. 94 - Ryc. 42. Pt. „Stężenie glikogenu w supernatancie komórek ciała tłuszczowego matek zdrowych jedno i ośmiodniowych oraz ośmiodniowych zarażonych *N. ceranae* z podziałem na sternit, tergit III oraz tergit V.”

Taki stan rzeczy wprowadza niepotrzebny chaos i utrudnia zrozumienie tekstu. Dla jasności i możliwości porównania rezultatów z wynikami innych prac o podobnej tematyce, wskazane jest doprecyzowanie, ujednolicenie i uzupełnienie jednostek aktywności.

- Rekomendacja do uzupełnienia. Wykazano wiele istotnych zmian morfologiczno – funkcjonalnych u pszczoł po zarażeniu pasożytami *Nosema spp.* Kompendium to wzbogaciłby schemat/rycina graficznie przedstawiający zmiany w badanych markerach (z uwzględnieniem rodzaju zmiany: wyższe/niższe w porównaniu do kontroli)

Nosemoza typu C, wywołana przez *N. ceranae* z uwagi na to, że przebiega bez jednoznacznych objawów klinicznych, jest uważana za chorobę groźną dla pszczoł i trudną do zwalczania. Mam do Doktoranta pytania, na które odpowiedzi mogą być pomocną wskazówką dla hodowców/pszczelarzy w związku z dużym zagrożeniem rozprzestrzeniania się tej choroby w pasiekach chociażby poprzez rozprowadzanie chorych/zakażonych matek pszczelich.

- Materiał badawczy stanowiły nieunasiennione matki rasy kraińskiej (*A. mellifera carnica*, Pollmann, 1879) w wieku jednego i ośmiu dni, zarówno zdrowe, jak i te, które w sposób naturalny uległy zakażeniu przez *N. ceranae*. Biorąc pod uwagę fakt, że przyjętym przez rodziny w ulikach weselnych matkom uniemożliwiono naturalne unasienianie, bardzo proszę

o uzupełnienie informacji dotyczących przypuszczalnego czasu i sposobu zakażenia matek przez *N. ceranae*. Wskazanie newralgicznych momentów, w których może dojść do zakażeń *N. ceranae* może mieć przełożenie na zalecenia praktyczne dla hodowców.

- W doświadczeniu zastosowano do hodowli matek pszczelich, spośród dostępnych na rynku różnych typów jednorodzinnych i dwurodzinnych ulików weselnych, dwurodzinne uliki typu mini plus (rozmiar ramki: 25cm × 17cm). Proszę o uzasadnienie takiego wyboru zważając na fakt, że podczas przeglądu/obsługi ulika istnieje potencjalna możliwość błędzenia pszczoł między rodzinami. Czy taka sytuacja stwarza zagrożenie ewentualnego rozprzestrzeniania się patogenów, a w tym także *N. ceranae* jeśli np. jedna z rodzin przebywająca w uliku byłaby zakażona?

- Czy warunki środowiskowe różniły się w poszczególnych sezonach i mogły mieć znaczący wpływ na kondycje wykorzystanych w badaniach matek pszczelich? Jak kształtowały się ewentualne różnice dotyczące strat matek, skuteczności przyjęć matek w ulikach, liczby małych zniekształconych mateczników?

Wyżej wymienione uwagi krytyczne nie umniejszają wartości merytorycznej niniejszej dysertacji. Należy je traktować je, jako sugestie, które mogą okazać się przydane przy przygotowywaniu pracy do publikacji.

W świetle wszystkich powyższych argumentów stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji Dysertacja doktorska Pana mgr 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 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 mgr. Michała Marcina Schulza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Praca charakteryzuje się wysoką wartością poznawczą, nowatorskim charakterem jak również szerokim zakresem przeprowadzonych badań. Świadczy to o dużej samodzielności naukowej i badawczej Pana mgr inż. Michała M. Schulza, a także o jego pracowitości i rzetelności.

Biorąc pod uwagę powyższe przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej Pana mgr Michała Marcina Schulza.



Dr hab. Beata Madras - Majewska, prof. SGGW

