

Prof. dr hab. inż. Adam Roman
Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
ul. Chełmońskiego 38C, 51-630 Wrocław

Wrocław, dnia 14.06.2022 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr. inż. Piotra Dziechciarza

pt. „Możliwość modelowania cech pszczół i rodzin pszczelich przy pomocy plastrów o małej i standardowej szerokości komórek”

Podstawę opracowania recenzji stanowi decyzja Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie oraz pismo z dnia 18.05.2022 r. Przewodniczącej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie pani prof. dr hab. Brygidy Ślaskiej.

1. Syntetyczna charakterystyka recenzowanej rozprawy

Promotorem rozprawy doktorskiej jest dr hab. inż. Krzysztof Olszewski, prof. uczelni

Przedmiotowa rozprawa doktorska dotyczy problematyki związanej z wykorzystaniem plastrów o małej i standardowej szerokości komórek do modelowania cech pszczół i rodzin pszczelich. Analizy przedmiotu badań dokonano w trzech etapach. W pierwszym etapie Doktorant przeanalizował wpływ połączenia plastrów o małych i standardowych komórkach w tej samej rodzinie pszczelej na cechy morfometryczne (tj. długość języzeczka, długość prawego skrzydła pierwszej pary, długość odcinaków a i b żyłki kubitalnej oraz 3. i 4. tergitu odwłokowego). W drugim etapie ocenił wpływ wychowu czerwiu w plastrach o małej i standardowej szerokości komórek na aktywność systemu proteolitycznego pszczół robotnic. A w ostatnim etapie dokonał analizy wpływu zastosowania plastrów o małej i standardowej szerokości komórek na efektywność zachowania higienicznego rodzin pszczelich (poprzez szybkość usuwania zmarłego czerwiu z komórek plastrów). Jednoczesne utrzymanie rodzin pszczelich w danym gnieździe na plastrach o małych i standardowych komórkach, zastosowane w badaniach przez Doktoranta, jest nowatorskim kierunkiem w badaniach biologii pszczół i rodzin pszczelich oraz w gospodarce pasiecznej.

Całość pracy ma spójną strukturę i składa się z: 7 zasadniczych i ponumerowanych rozdziałów (rozdział 8 to Piśmiennictwo), z których trzy (rozdziały 4, 5 i 6) rozbudowane zostały o podrozdziały. W rozdziałach 4 (Materiał i metody) i 5 (Wyniki) znajduje się po trzy podrozdziały, a w rozdziale 6 (Dyskusja) są cztery podrozdziały. Całość została uzupełniona streszczeniami w języku polskim i angielskim, trzema publikacjami wchodzącymi w skład cyklu stanowiącego podstawę rozprawy doktorskiej oraz oświadczeniami współautorów tych publikacji. Pracę wzbogacono 3 tabelami i 4 rycinami zawartymi w tekście (oprócz tych, zamieszczonych w publikacjach). W spisie bibliograficznym zawartym w rozprawie znajduje się 97 pozycji literaturowych i opracowań, w tym 82 pozycje autorów zagranicznych oraz 15 pozycji autorów polskich.

Całość opracowania zawarta jest na 43 ponumerowanych stronach. Na kolejnych 15 stronach (nie ponumerowanych) zamieszczona jest pierwsza publikacja wchodząca w skład rozprawy, po niej znajdują się 2 strony z oświadczeniami współautorów pracy. Na kolejnych 13 stronach zamieszczona jest druga praca wchodząca w skład rozprawy, a za nią 2 oświadczenia współautorów tej pracy. Na następnych 8 stronach zamieszczona jest trzecia publikacja wchodząca w skład dysertacji, a bezpośrednio za nią 2 oświadczenia współautorów pracy.

Wykaz prac naukowych stanowiących podstawę do opracowania rozprawy doktorskiej:

1. **Dziechciarz, P.**, Borsuk, G., Olszewski, K. (2021). Possibility to change the body size in worker bees by a combination of small-cell and standard-cell combs in the same nest. *Apidologie*, 52(6), 1017-1032. <https://doi.org/10.1007/s13592-021-00884-4>

Liczba punktów w roku publikacji: MEiN = 140; IF = 2,318

Indywidualny wkład pracy Doktoranta w publikację określono na 65%: zaplanowanie i przeprowadzenie doświadczenia, redagowanie manuskryptu, dyskusja, korekta po recenzjach.

2. **Dziechciarz, P.**, Strachecka A., Olszewski, K. (2022). Effect of comb cell width on the activity of the proteolytic system in the hemolymph of *Apis mellifera* workers. *Animals*, 12, 978. <https://doi.org/10.3390/ani12080978>

Liczba punktów w roku publikacji: MEiN = 100; IF = 2,752

Indywidualny wkład pracy Doktoranta w publikację określony został na 75%: zaplanowanie oraz przeprowadzenie doświadczenia w pasiece, gromadzenie materiału oraz analizy laboratoryjne, redagowanie manuskryptu, dyskusja, korekta po recenzjach.

3. **Dziechciarz, P.**, Borsuk, G., Olszewski, K. (2022). Dead brood of *Apis mellifera* is removed more effectively from small-cell combs than from standard-cell combs. *Animals*, 12, 418. <https://doi.org/10.3390/ani12040418>.

Liczba punktów w roku publikacji: MEiN = 100; IF = 2,752

Indywidualny wkład pracy Doktoranta w publikację określono na 75%: zaplanowanie oraz przeprowadzenie doświadczenia w pasiece, gromadzenie materiału oraz analizy laboratoryjne, analiza danych, redagowanie manuskryptu.

Łączna liczba punktów MEiN (wg aktualnej listy czasopism naukowych) = 340

IF (wg Web of Science™) = 7,822

Indywidualny wkład pracy Doktoranta = 71,7%

We wszystkich publikacjach uwzględnionych w rozprawie doktorskiej Doktorant jest pierwszym autorem, co świadczy o jego znaczącej roli w zespole zajmującym się tym tematem badawczym.

2. Ocena doboru tematu rozprawy

W mojej ocenie temat rozprawy doktorskiej jest ciekawy i aktualny, gdyż do tej pory nie było badań nad skutkami jednoczesnego wykorzystania plastrów o małej i standardowej szerokości komórek w gniazdach pszczoły miodnej.

W przedłożonej do recenzji rozprawie doktorskiej został zbadany i przeanalizowany nowy aspekt możliwości wykorzystania plastrów o małych komórkach w gospodarce pasiecznej. W pewnym stopniu jest to powrót do naturalnego urządzenia gniazda pszczelego, w którym znajdują się plastry z komórkami o różnej szerokości. Rodziny pszczele budując plastry w warunkach naturalnych, bez użycia węzy, wykonują komórki o mniejszej i większej szerokości, co daje znaczną zmienność wielkości komórek plastrów w gnieździe [Maggi i in. 2010]. Badania będące przedmiotem przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej zostały przeprowadzone w ramach projektu „Wyjaśnienie fenomenu naddominowania behawioralnego rodzin pszczelich utrzymywanych na dwóch rodzajach plastrów, o standardowym i o małym rozmiarze komórek” nr 2018/31/B/NZ9/02480, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki. Dotychczasowe badania skupiały się na zagadnieniach związanych z utrzymywaniem rodzin pszczelich tylko na plastrach o małych komórkach lub tylko na plastrach o standardowych komórkach. Jak stwierdził Doktorant, przyczynkiem do opracowania tego projektu były obserwacje rodzin utrzymywanych jednocześnie na plastrach o komórkach małych i standardowych, które wskazywały na występowanie interakcji między robotnicami wychowanymi w tych dwóch typach plastrów, co skutkowało efektem podobnym do heterozji, odnoszącym się do rodziny pszczelej jako organizmu zbiorowego. Pod względem siły, szybkości rozwoju wiosennego i wydajności rodziny te znacznie przewyższały zarówno rodziny utrzymywane tylko na plastrach o małych komórkach, jak i te utrzymywane tylko na plastrach o standardowych komórkach. Prace stanowiące podstawę do opracowania przedkładanej rozprawy doktorskiej dotyczą wpływu plastrów o różnej szerokości komórek (małej i standardowej) na cechy morfometryczne wychowanych w nich robotnic (Praca 1.), poziom aktywności proteaz i ich inhibitorów w hemolimfie robotnic (Praca 2.) oraz efektywność zachowania higienicznego wobec martwego czerwiu (Praca 3.).

Rodzina pszczoły miodnej jest skomplikowanym układem socjofizjologicznym, często określanym mianem superorganizmu, którego integralną częścią jest gniazdo składające się z plastrów. Do tego stopnia jest to zintegrowane, że Tautz [2007] określił plaster jako największy i najważniejszy organ rodziny pszczelej. Opierając się na tych twierdzeniach można założyć, że zmiana szerokości komórek plastra wpływa nie tylko na cechy morfologiczne wychowanych w nim robotnic, lecz przekłada się także na biologię całej rodziny. Jednak pomimo znacznego rozwoju technik badawczych, zagadnienie to jest jeszcze mało poznane. Całkowitą nowością przedłożonej do oceny rozprawy jest ocena wpływu jednoczesnego utrzymania rodzin na plastrach o małych i standardowych komórkach na cechy robotnic oraz rodzin pszczelich. Naddominacja behawioralna, czyli istotna przewaga pod względem cech użytkowych rodzin utrzymywanych jednocześnie na plastrach o małych i standardowych komórkach nad rodzinami utrzymywanymi tylko na plastrach o małych komórkach lub tylko na plastrach o standardowych komórkach, wskazuje na występowanie interakcji między robotnicami wychowanymi w tych dwóch typach plastrów. Z dużą dozą prawdopodobieństwa można założyć, że jest to skutek zwiększenia zmienności komórek w gnieździe rodziny pszczelej, a co za tym idzie upodobnienia jego struktury do naturalnego gniazda zbudowanego bez użycia węzy, cechującego się znaczną zmiennością szerokości komórek [Maggi i in., 2010]. Dobrze poznanie możliwość modelowania cech pszczół i rodzin pszczelich przy pomocy plastrów o małej i standardowej szerokości komórek może przyczynić się do zwiększenia użyteczności pszczół poprzez opracowanie technologii jednoczesnego utrzymania rodzin pszczelich na plastrach o małych i standardowych komórkach. Ponadto poszerzy ono wiedzę o biologii i ewolucji pszczoły miodnej w aspekcie podziału pracy w rodzinie pszczelej.

W związku z tym, wysoko oceniam dobór tematu rozprawy doktorskiej, w której Doktorant opisał próby wykorzystania plastrów o małej i standardowej średnicy komórek w gnieździe pszczelim do modyfikowania cech pszczół i rodzin pszczelich.

Doktorant wykazał, że wartości większości cech morfometrycznych robotnic wychowanych w plastrach o małych komórkach były najczęściej istotnie niższe niż u robotnic wychowanych w plastrach o standardowych komórkach. Jednak zmiana wartości cech morfometrycznych nie była proporcjonalna do zmiany szerokość komórek plastra, w których były one wychowane. Autor udowodnił, że cechy te zmieniały się w znacznie mniejszym zakresie niż szerokość komórek plastrów. Co ciekawe, karmienie larw wychowywanych w plastrach o małych komórkach przez robotnice wychowane w plastrach o standardowych komórkach skutkowało zwiększeniem długości jęczyczka oraz wartości współczynnika wypełnienia komórki. Wartość cech morfometrycznych wykorzystywanych w ocenie przynależności podgatunkowej pszczoły miodnej zmieniała się w niewielkim zakresie w porównaniu do zmiany szerokości komórek plastra i mieściła się w przedziale zmian przyjętych za sezonowe. Odporność cech morfometrycznych na zmianę szerokości komórek plastra potwierdziła ich dużą przydatność w ocenie przynależności podgatunkowej pszczoły miodnej (Praca 1.).

Z badań Doktoranta wynika, że szerokość komórek plastra istotnie wpływała na aktywność proteaz i ich inhibitorów (Praca 2.) oraz na efektywność i szybkość usuwania zamarłego czerwiu (Praca 3.). Dowiódł on, że u 1-dniowych pszczół robotnic wyższe stężenie białka ogólnego było u robotnic wychowanych w małych komórkach, a aktywność proteaz i ich inhibitorów u robotnic wychowywanych w plastrach o standardowych komórkach. Jak wykazał Doktorant, u starszych robotnic w wieku 7, 14 i 21 dni było odwrotnie. Okazało się też, że martwy czerw był efektywniej usuwany z plastrów o małych komórkach niż z plastrów o komórkach standardowych.

Na podstawie badań własnych Doktorant wykazał, że jednoczesne utrzymanie rodzin pszczelich na plastrach o małych i standardowych komórkach jest skutecznym narzędziem modyfikowania cech pszczół i rodzin pszczelich.

Autor zawarł też sugestię, że kolejne badania powinny zweryfikować hipotezę dotyczącą wpływu wychowu robotnic w plastrach o komórkach o różnej szerokości na podział pracy w rodzinie, a szczególnie na wartości cech użytkowych rodzin pszczelich, które w znacznej mierze są kształtowane przez interakcje między robotnicami. Badania takie mogą przyczynić się także do wyjaśnienia roli znacznej różnicy między szerokością komórek w plastrach budowanych bez użycia węzy i dostarczyć nowej wiedzy o biologii pszczoły miodnej i rodziny pszczelej.

3. Ogólna charakterystyka rozprawy

Treść rozprawy doktorskiej została przedstawiona w 7 zasadniczych i ponumerowanych rozdziałach, które zostały poprzedzone spisem treści, wykazem prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, streszczeniem w języku polskim oraz streszczeniem w języku angielskim.

We wstępie – **rozdział pierwszy**, Autor rozprawy przedstawił tło i genezę poruszanych zagadnień. Opisał znaczenie pszczoły miodnej dla środowiska i gospodarki człowieka oraz zagrożenia, z jakimi obecnie zmagają się pszczoła i pszczelarstwo. Jedną z głównych przyczyn start rodzin pszczelich jest osłabienie odporności pszczół spowodowane przez środki ochrony roślin i niedobory składników pokarmowych, które są skutkiem znacznego zubożenia bioróżnorodności szaty roślinnej. To powoduje, że rodziny pszczele oraz pojedyncze pszczoły są bardziej podatne na inwazję pasożytów *Varroa destructor* i *Nosema* spp. [Goulson i in., 2015; Brandt i in., 2016].

Problemy zdrowotne pszczół sprawiają, że współcześnie obok doskonalenia metod zwalczania pasożytów, poszukuje się technologii pasiecznych wspierających naturalne mechanizmy odporności pojedynczych pszczół oraz rodzin pszczelich. Można to uzyskać poprzez zabiegi biotechniczne, m.in. wykorzystanie w gospodarce pasiecznej plastrów o małych komórkach (szerokości ok. 4,90 mm), co jest przedmiotem niniejszej rozprawy.

Skutkiem wprowadzenia węzy jako szablonu, na podstawie którego pszczoły budują komórki plastrów jest to, że mają one obecnie zwiększoną i niemal jednakową szerokość 5,4-5,5 mm [McMullan i Brown, 2006]. Natomiast w naturalnych gniazdach zbudowanych bez użycia węzy szerokość komórek waha się w znacznie większym zakresie 4,17-6,86 mm [Maggi i in., 2010]. Okazuje się, że w małych komórkach ograniczony jest rozwój populacji pasożyta pszczół *V. destructor* [Message i Goncalves, 1995; Piccirillo i De Jong, 2003; Taylor i in., 2008; Ellis i in., 2009; Berry i in., 2010; Coffey i in., 2010; Maggi i in., 2010; Seeley i Griffin 2011; Singer i in., 2019]. W warunkach europejskich ograniczenie rozwoju populacji *V. destructor* na skutek utrzymania pszczół na plastrach o małych komórkach potwierdziły tylko badania Olszewskiego [2013] oraz Singera i in. [2019], chociaż praktyka pszczelarska nie do końca to potwierdza. Stwierdzono jednak istotny wpływ utrzymania rodzin na plastrach o małych komórkach na cechy morfometryczne robotnic oraz biologię rodziny pszczelej. Z badań McMullana i Browna [2006] oraz Seeleyego i Griffina [2011] wynika, że zmniejszenie szerokości komórek plastra o 7-8% skutkuje zmniejszeniem szerokości głowy i szerokości tułowia u pszczół robotnic tylko o 1%, co nie wpłynęło na wartości indeksu kubitalnego [McMullan i Brown, 2006].

Za cechy morfometryczne będące miarą wielkości ciała pszczół Ruttner [1992] uważa długość skrzydła pierwszej pary oraz szerokość 3. i 4. tergitu odwłokowego. Z gospodarczego punktu widzenia bardzo ważną cechą jest także długość języczka, gdyż decyduje ona o możliwości pobierania nektaru z roślin o długich rurkach kwiatowych z głęboko położonymi nektarnikami, co w konsekwencji przekłada się na wydajność rodzin (Praca 1.).

Pszczoły miodne wykształciły behawioralne mechanizmy obrony przed patogenami, które są następstwem społecznego trybu życia. Pojedyncze osobniki posiadają wrodzone bariery immunologiczne, np. system proteolityczny, na który składają się proteazy i ich inhibitory w hemolimfie oraz na powierzchni ciała pszczół. Białka odpornościowe mają właściwości proteolityczne, mogą hydrolizować wiązania peptydowe polipeptydów [Strachecka i Grzywnowicz, 2008; Strachecka i in., 2018]. Proteazy umożliwiają utrzymanie homeostazy organizmu poprzez aktywację proenzymów, uwalnianie hormonów i fizjologicznie czynnych białek z ich prekursorów czy aktywację receptorów. Inhibitory proteazy hamują również aktywność enzymów proteolitycznych, zarówno specyficznych dla pszczół, jak i niespecyficznych, należących do patogenów i zapobiegają ich przenikaniu do organizmu owada. Do czynników o silnym działaniu immunosupresyjnym pochodzenia antropogenicznego należą pestycydy [Blacquièrre i in., 2012; Cullen i in., 2019; Paleolog i in. 2020], akarycydy stosowane przeciwko *V. destructor* [Strachecka i in., 2016] oraz niedobory pokarmowe [(El-Seedi i in., 2022)]. Umieszczenie w gnieździe tej samej rodziny pszczelej plastrów o małej i standardowej szerokości komórek stwarza możliwości modelowania poziomu aktywności składowych układu proteolitycznego w hemolimfie robotnic (Praca 2.).

Owady społeczne wykształciły także odporność społeczną, której jedną z form jest higiena gniazda [Cremer i in., 2007], co wynika z wielokrotnego wykorzystania tych samych komórek [Michener, 1974]. Miarą zachowania higienicznego jest szybkość usuwania przez rodzinę próby martwego czerwiu [Büchler i in., 2010]. Cecha ta jest uwarunkowana genetycznie, dlatego podlega kształtowaniu w wyniku pracy hodowlanej ukierunkowanej na nasilenie zachowania higienicznego [Palacio i in., 2000; Büchler i in., 2010]. Jednak jest też modyfikowana przez czynniki środowiskowe, zarówno te na zewnątrz gniazda, m.in. dopływ nektaru [Gerdtz i in., 2018], jak również czynniki środowiska wewnętrznego gniazda, np. szerokość komórek plastra. Olszewski i in. [2014b] stwierdzili, że utrzymanie rodzin na

plastrach o małych komórkach (o szerokości komórki 4,93 mm) skutkuje istotnym wzrostem nasilenia zachowania higienicznego w porównaniu do rodzin utrzymywanych na plastrach o komórkach standardowych. Nie wyjaśniono jednak, czy to pszczoły wychowane w małych komórkach, mają lepszą zdolność do identyfikowania komórek z martwym czerwem i usuwania ich zawartości, czy to martwy czerw w małych komórkach bardziej stymuluje robotnice do oczyszczania komórek, niż ten w standardowych komórkach. W tym kontekście istotnym było zbadanie potencjalnych możliwości nasilenia zachowania higienicznego rodzin pszczelich przez umieszczenie w ich gnieździe plastrów o różnej szerokości komórek (Praca 3.).

W **rozdziale drugim** Doktorant przedstawił cztery hipotezy badawcze, które w mojej ocenie zostały prawidłowo sformułowane:

1. Wykorzystanie plastrów o małej (około 4,90 mm) i o standardowej (około 5,50 mm) szerokości komórek nie jest tak skuteczną metodą modelowania cech morfometrycznych robotnic jak dotychczas zakładano, ponieważ rozmiar ich ciała zmienia się w znacznie mniejszym zakresie niż szerokości komórki, w której zostały one wychowane.
2. Szerokość komórek plastrów, w których są wychowane robotnice istotnie wpływa na stężenie białka ogólnego oraz aktywność proteaz i ich inhibitorów w hemolimfie robotnic.
3. Martwy czerw robotnic jest efektywniej usuwany z plastrów o małych komórkach niż z plastrów o standardowych komórkach.
4. Jednoczesne utrzymanie rodzin pszczelich na plastrach o małych i o standardowych komórkach jest skutecznym narzędziem modyfikowania cech pszczół i rodzin pszczelich.

W kolejnym, **rozdziale trzecim** Doktorant zamieścił cel pracy, który uważam za właściwy, jasno sprecyzowany i merytorycznie uzasadniony.

W **rozdziale czwartym** Autor opisał materiał i metody wykorzystane w trakcie realizacji badań. W nawiązaniu do Pracy 1. opisał proces wychowu robotnic, uzyskując 4 grupy robotnic odpowiadające kombinacji typu plastra i typu rodziny wychowującej:

- wychowane w plastrach o małych komórkach, w rodzinie utrzymywanej na plastrach małych komórkach,
- wychowane w plastrach o małych komórkach, w rodzinie utrzymywanej na plastrach standardowych komórkach,
- wychowane w plastrach o standardowych komórkach, w rodzinie utrzymywanej na plastrach o małych komórkach,
- wychowane w plastrach o standardowych komórkach, w rodzinie utrzymywanej na plastrach o standardowych komórkach.

Po ok. 100 świeżo wygryzionych robotnic z każdej grupy umieszczał w oddzielnych klatkach i pozostawiał na 7 dni w cieplarni, celem stwardnienia oskórka chitynowego. Następnie po uśpieniu pszczół i wypreparowaniu odpowiednich części ciała dokonał pomiarów liniowych: długość języczka, długość skrzydła pierwszej pary, długość odcinaków a i b żyłki kubitalnej. Na podstawie stosunku długości odcinaków a do b wyliczył wartość indeksu kubitalnego według metody Goetze [Ruttner, 1988]. Wszystkie uzyskane wyniki Doktorant poddał analizie statystycznej. W mojej ocenie właściwie wykorzystał narzędzia statystyczne.

W dalszej części tego rozdziału pan mgr Piotr Dziechciarz opisał metodykę drugiego etapu badań nawiązując do Pracy 2. Aby zmniejszyć ryzyko wpływu na wyniki przypadkowych czynników, jakie mogą zadziałać w przypadku badań jednosezonowych, doświadczenie w tym

samym układzie było powtórzone w trzech kolejnych sezonach: 2019, 2020 i 2021. Tu również Doktorant opisał proces pozyskania pszczoł robotnic wychowywanych w pięciu rodzinach osadzonych w ulach, w których gniazda składały się z plastrów o małych i standardowych komórkach. Wychów robotnic był przeprowadzony w kilku kombinacjach zmieniających izolowany plaster doświadczalny. Spośród robotnic wygryzionych z każdego plastra eksperymentalnego, z każdej z pięciu rodzin wychowujących, oznakował po ok. 1500 pszczoł (marker POSCA PC-3M). Robotnice wychowane w plastrach eksperymentalnych o małych i standardowych komórkach były znakowane innym kolorem. Oznakowane robotnice umieścił w pięciu rodzinach o zbliżonej sile i strukturze, utrzymywanych w ulach odkładowych Dadanta mieszczących po 6 plastrów. W każdej rodzinie była czerwiała matka i 5 plastrów z czerwem w różnym wieku oraz jeden plaster z pokarmem - miód i pierzga. Matki w tych rodzinach były siostrami w tym samym wieku. Robotnice wychowane z każdej z rodzin wychowujących trafiły do osobnej rodziny. Następnie Doktorant opisał proces pozyskania od pszczoł hemolimfy w 7., 14. i 21. dniu od momentu ich oznakowania. Jedną próbę zawierała hemolimfę pobraną od pięciu pszczoł. Stężenie białka ogólnego badano za pomocą metody Lowryego i in. [1951] zmodyfikowanej przez Schacterle i Pollacka [1973]. Aktywność proteaz kwasowych (pH 2,4), obojętnych (pH 7,0) i zasadowych (pH 11,2) w hemolimfie analizowano metodą Ansona [1938] zmodyfikowaną przez Strachecką i in. [2011]. Aktywność inhibitorów proteaz oznaczono metodą Lee i Lin [1995]. Uzyskane wyniki analiz laboratoryjnych poddane zostały analizie statystycznej.

W trzeciej części rozdziału „Materiał i metody” nawiązującej do Pracy 3. Doktorant opisał metodykę oceny efektywności zachowań higienicznych pszczoł. Wykorzystał metodę polegającą na nakłuwaniu igłą entomologiczną zasklepionych komórek z poczwarkami w okresie, gdy ich ciało miało barwę białą, a oczy fioletową (15-17 dzień rozwoju preimaginalnego). Przekłuwał po 100 komórek z poczwarkami w plastrach o wąskich i standardowych komórkach. Plastry z przekłutym czerwem ustawiał obok siebie, aby wykluczyć wpływ różnej ich lokalizacji w gnieździe na szybkość usuwania martwego czerwia. Tę część rozdziału także zakończył analizą statystyczną uzyskanych wyników.

Kolejny, czyli **rozdział piąty** stanowi omówienie wyników, które zostało podzielone na 3 podrozdziały, każdy odnoszący się do jednej pracy wchodzącej w skład dysertacji. W podrozdziale nr 5.1. Doktorant opisał wyniki uzyskane z pomiarów liniowych głowy, tułowia, jęczyczka i wartość współczynnika wypełnienia komórki, a także pomiarów liniowych skrzydła pierwszej pary i wartość indeksu kubitalnego oraz pomiarów liniowych 3. i 4. tergitu odwłokowego. Opisał też procentowe zmiany szerokości komórek plastra, liniowych cech morfometrycznych oraz współczynnika wypełnienia komórki. Stwierdził, że zakres zmniejszenia zdecydowanej większości liniowych cech morfometrycznych spowodowany wychowem w plastrach o małych komórkach był znacznie mniejszy niż zmniejszenie szerokości komórek plastra i wahał się w granicach od 0,5% dla długości skrzydła do 4,5% dla wysokości głowy. Niezależnie od rodziny wychowującej, w skutek zmniejszenia szerokości komórek plastrów u robotnic wychowanych znacznie wzrósł współczynnik wypełnienia komórki o 8,5-11,3% (Praca 1.).

W podrozdziale nr 5.2. Autor zawarł informację o warunkach pogodowych panujących w kolejnych latach badań i określił je jako zbliżone w 2020 i 2021 r. Jedynie sumy opadów w 2019 roku były znacznie mniejsze niż w następnych latach, a w okresie poprzedzającym doświadczenie panowała długa susza. W tej części Doktorant opisał wyniki analiz laboratoryjnych hemolimfy pszczoł i wykazał, że we wszystkich latach (2019, 2020 i 2021) stężenie białka u jednodniowych pszczoł było zawsze istotnie wyższe u robotnic wychowanych w komórkach wąskich niż u robotnic wychowanych w komórkach standardowych. W przypadku aktywności proteaz i ich inhibitorów było odwrotnie, gdyż była ona zawsze wyższa u robotnic wychowanych w komórkach standardowych niż u wychowanych w komórkach

wąskich, a wykazane różnice były statystycznie istotne. W pozostałych grupach wiekowych (7, 14 i 21 dni), w latach 2020 i 2021 tendencje dla stężenia białka oraz aktywności proteaz i ich inhibitorów zawsze były niemal identyczne. Niezależnie od wieku robotnic (7, 14 i 21 dni) stężenie białka było zawsze istotnie wyższe u robotnic wychowanych w komórkach standardowych niż u robotnic wychowanych w komórkach wąskich. Natomiast w przypadku aktywności proteaz i ich inhibitorów było zwykle odwrotnie. Wyjątkiem była aktywność inhibitorów proteaz obojętnych u robotnic w wieku 21 dni w 2020 r. i inhibitorów proteaz zasadowych u robotnic w wieku 21 dni w 2020 i 2021 r.

W podrozdziale nr 5.3. Doktorant opisał efektywność zachowania higienicznego pszczoł i stwierdził, że rok istotnie wpływał na efektywność zachowania higienicznego. Zarówno w plastrach o małych komórkach jak i standardowych w 2020 roku liczba komórek nieodsklepionych była większa niż w 2021 r. Jednak istotnie większą liczbę całkowicie wyczyszczonych komórek odnotowano w roku 2020. Niezależnie od roku czerw w plastrach o wąskich komórkach był odsklepiany i usuwany istotnie szybciej niż w plastrach o komórkach standardowych (Praca 3.).

W **rozdziale szóstym** Autor zaprezentował dyskusję wyników. Rozdział ten jest jasno i czytelnie skonstruowany, jest klasyczną konfrontacją wyników uzyskanych w badaniach własnych z wynikami innych autorów. Doktorant przeanalizował w nim całość swojej pracy badawczej, potwierdzając kolejne swoje stwierdzenia dostępnymi pozycjami piśmiennictwa. W rozdziale tym, także odnosi się do kolejnych publikacji wchodzących w skład cyklu składającego się na rozprawę doktorską. Rozdziały poświęcone dyskusji wyników w tych publikacjach są dość obszerne i dokładnie konfrontują wyniki własne autorów z wynikami dostępnymi w literaturze światowej. Dlatego też uważam, że opracowanie tego rozdziału zaprezentowane przez Doktoranta jest wystarczające, gdyż stanowi swego rodzaju résumé dyskusji z poszczególnych publikacji Jego współautorstwa.

Rozdział siódmy stanowią wnioski. Uzyskane wyniki badań umożliwiły Doktorantowi sformułowanie siedmiu wniosków. W mojej ocenie wnioski są trafne, odpowiadające rzeczywistym efektom uzyskanym w badaniach. Jednak z obowiązku recenzenta muszę zauważyć, że wnioski są za bardzo opisowe – powinny być proste i zwięzłe, najlepiej 1-zdaniowe.

Warte zauważenia jest, że siódmy (ostatni) wniosek stanowi także inspirację dla Doktoranta na wskazanie kierunku dalszych prac badawczych, którymi będzie weryfikacja hipotezy dotyczącej wpływu wychowu robotnic w komórkach o różnej szerokości na podział pracy w kaście robotnic, a co za tym idzie na wartości cech użytkowych rodzin, która w znacznej mierze jest kształtowana przez interakcje między robotnicami.

4. Ocena merytoryczna rozprawy

Uważam, że merytorycznie rozprawa została napisana właściwie. Publikacje zaliczone do cyklu stanowiącego podstawę rozprawy doktorskiej zostały dobrane prawidłowo, są zbieżne tematycznie i stanowią logiczny i merytoryczny ciąg kolejnych działań badawczych, w których znaczną rolę odgrywał Doktorant. Do najważniejszych osiągnięć Autora mogę zaliczyć to, że wykazał, iż względnie stała wielkość ciała robotnic w połączeniu z wychowywaniem się w plastrach o małych komórkach w skutek zwiększenia wartości współczynnika wypełnienia komórki może być jednym z czynników zwiększających oporność rodzin pszczeł na *Varroa destructor*. Cechy morfometryczne ciała pszczoł robotnic zmieniały się w znacznie mniejszym zakresie, niż szerokość komórek plastra, w których były one wychowane. Doktorant wykazał, że dzięki odporności cech morfometrycznych wykorzystywanych w ocenie przynależności podgatunkowej/rasowej pszczoły miodnej na zmianę szerokość komórek plastra nie ma zagrożenia dla przydatności tych cech do identyfikacji podgatunkowej pszczoł. Udowodnił też,

że szerokość komórek plastrów, w których były wychowane robotnice istotnie wpływała na stężenia białka ogólnego oraz aktywność proteaz i ich inhibitorów w hemolimfie pszczoł. Jednak wskaźniki te nie były stabilne, gdyż u robotnic 1-dniowych wyższe stężenia białka było u pszczoł wychowanych w małych komórkach, a aktywność proteaz i ich inhibitorów u robotnic wychowywanych w plastrach o standardowych komórkach. Z kolei u starszych pszczoł robotnic w wieku 7, 14 i 21 dni było odwrotnie. Bardzo ważne i przydatne z praktycznego punktu widzenia jest kolejne odkrycie Doktoranta, a mianowicie to, że w rodzinach utrzymywanych jednocześnie na plastrach o małych i standardowych komórkach, szerokość komórek plastra istotnie wpływała na poziom higieny gniazda. Szybkość i efektywność usuwania martwego czerwiu z plastrów o małych komórkach była znacznie większa niż z plastrów o standardowych komórkach, co przekłada się na wzmocnienie odporności rodzin pszczelich na rozwój chorób w gnieździe.

Konkluzja z rozprawy doktorskiej pana mgr. inż. Piotra Dziechciarza jest bardzo ważna, gdyż zaprezentowane wyniki badań dają podstawę do stwierdzenia, że utrzymywanie rodzin pszczelich na plastrach o komórkach o różnej szerokości (małej i standardowej) jest uzasadnione nie tylko z punktu widzenia naukowego, ale także praktycznego. I to jest wartość dodana ocenianej rozprawy doktorskiej.

Uwagi:

Biorąc pod uwagę całość rozprawy uważam, że jej układ jest standardowy i odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim o profilu zootechnicznym.

Jednak z obowiązku recenzenta muszę poczynić też pewne drobne uwagi, gdyż Doktorant przy pisaniu rozprawy nie ustrzegł się błędów i potknięć.

Przede wszystkim tytuł rozprawy sugeruje, że wystarczy włożyć do gniazda pszczelego plastry o małych i standardowych komórkach, aby wpłynąć na cechy pszczoł i rodzin pszczelich. dopiero treść pracy wyjaśnia, na czym to modelowanie cech polegało. Dlatego w mojej ocenie bardziej odpowiedni byłby tytuł: „Zastosowanie plastrów o małej i standardowej szerokości komórek jako czynnika umożliwiającego modelowanie cech pszczoł i rodzin pszczelich w kolejnych pokoleniach”.

Uważam, że wszystkie strony w rozprawie, również te zawierające prace wchodzące w skład dysertacji, po winny być ponumerowane z zachowaniem ciągłości od pierwszej do ostatniej strony.

W opracowaniu znajduje się dużo błędów i braków literowych oraz błędów interpunkcyjnych, co wygląda jakby praca była pisana w pośpiechu. Np. w zdaniu rozpoczynającym się od stwierdzenia: „W badanych nad aktywnością systemu proteolitycznego robotnic (Praca 2.) – powinno być „W badaniach nad aktywnością systemu proteolitycznego robotnic (Praca 2.)” został nieco zmieniony sens zdania.

Zdarzają się zdania w formie osobowej (zwłaszcza w rozdziale Dyskusja), co w tego typu opracowaniach nie jest wskazane, gdyż wymogiem jest stosowanie formy bezosobowej.

W rozprawie brakuje wykazu używanych skrótów, przez co czytając i analizując dysertację trzeba szukać w treści pracy, co oznaczają dane skróty.

Doktorant błędnie użył określenia „matki unasiennione” – prawidłowo fachowy zwrot brzmi „matki unasienione”.

Autor w pracy często powtarza zwrot „jednoczesne utrzymanie rodzin na plastrach o małych i o standardowych komórkach” – myślę, że korzystniejsze byłoby „jednoczesne utrzymanie rodzin na plastrach o małych i standardowych komórkach”.

Mało dokładne jest zdanie: „wykorzystano także rodziny osadzone w ulach odkładowych Dadanta mieszczących 6 plastrów” – uważam, że precyzyjniejsze byłoby stwierdzenie „wykorzystano także rodziny osadzone w ulach odkładowych Dadanta mieszczących po 6 plastrów”.

Podobnie przy stwierdzeniu: „plastry sekcyjne wyjęto z rodzin i zmierzono szerokość komórek każdego z nich” – oczywiście powinno być, że „plastry sekcyjne wyjęto z gniazd pszczelich”. Szkoda, że Doktorant odniósł uzyskane wyniki badań własnych do warunków pogodowych tylko w Pracy 2. Brakuje tego w Pracach 1. i 3., gdyż jak wiadomo, warunki pogodowe mają znaczny wpływ na rozwój i funkcjonowanie rodzin pszczelich.

W mojej ocenie w pracy brakuje także opisu pożytków występujących w okresach badań w kolejnych sezonach, gdyż jest to istotny czynnik rozwoju rodziny oraz intensywności czerwienia matek pszczelich i karmienia czerwiu.

Nie do końca jestem przekonany, czy pszczoła Buckfast jest odpowiednia do tego typu badań, gdyż z wielu prac wynika, że jej populacja nie jest wyrównana genetycznie.

Jednak pomimo tych uwag, wysoko oceniam rozprawę doktorską pana mgr. inż. Piotra Dziechciarza.

5. Podsumowanie i wnioski końcowy

Praca doktorska pt. „Możliwość modelowania cech pszczół i rodzin pszczelich przy pomocy plastrów o małej i standardowej szerokości komórek” jest bardzo wartościowa zarówno pod względem naukowym, jak i praktycznym. Przedstawiona do recenzji praca doktorska dotyczy aktualnych problemów związanych z poszukiwaniami metod i czynników, dzięki którym możliwe byłoby modelowanie cech pszczół i rodzin pszczelich. Uzyskane wyniki doświadczeń wykorzystane w publikacjach wchodzących w skład cyklu składającego się na rozprawę doktorską zostały w pełni udokumentowane i zaprezentowane w sposób czytelny, również na wykresach i w tabelach (zamieszczonych w tych publikacjach).

Na podstawie analizy przedstawionej mi do oceny treści pracy uważam, że Doktorant dokonał trafnego wyboru tematyki swoich badań, a praca stanowi oryginalne rozwiązanie zagadnienia naukowego. Przedstawiona dysertacja nawiązuje do aktualnej wiedzy i wnosi do niej nowe treści. Cel rozprawy Doktorant sformułował poprawnie, a w efekcie przeprowadzonych badań został on osiągnięty i potwierdzony uzyskanymi wynikami. Przedstawiona przez Doktoranta metoda utrzymywania rodzin pszczelich w gniazdach składających się z plastrów o wąskich i standardowych komórkach ma szansę na wdrożenie w szeroko rozumianej praktyce pszczelarskiej. Opiniowana rozprawa wyczerpująco omawia zastosowany warsztat badawczy, przeprowadzone badania i analizy wyników oraz prawidłowo formułuje ciekawe i istotne dla dalszych badań wnioski.

Zaprezentowane w pracy wyniki badań są unikalne w skali krajowej i międzynarodowej, cenne zarówno z naukowego punktu widzenia, jak i możliwego zastosowania praktycznego. Wnoszą elementy nowej wiedzy do dyscypliny naukowej Zootechnika i Rybactwo. Zgromadzony w ramach realizacji pracy obszerny materiał badawczy, wykorzystany w trzech oryginalnych pracach naukowych tworzących cykl wchodzący w skład rozprawy, może zostać wykorzystany do dalszej analizy naukowej. Prace wchodzące w skład rozprawy zostały opublikowane w znanych i cenionych czasopismach, posiadających wysoką punktację MEiN (dwie prace po 100 pkt. i jedna 140 pkt.).

Autor pracy, pan mgr inż. Piotr Dziechciarz, wykazał się umiejętnością samodzielnego formułowania i rozwiązywania problemów naukowych i reprezentuje wysoki poziom wiedzy w zakresie tematyki rozprawy.

Wysoko oceniam poziom rozprawy, intelektualny wkład Doktoranta oraz nakład włożonej pracy. Biorąc pod uwagę, sformułowane powyżej opinie wyrażam jednoznaczne stanowisko, że opracowanie pana mgr. inż. Piotra Dziechciarza pt.: „Możliwość modelowania cech pszczół i rodzin pszczelich przy pomocy plastrów o małej i standardowej szerokości komórek”, zgodnie z art. 187 [Rozprawa doktorska] Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz.U.2021.478, tj. z dnia 16.03.2021 r.) spełnia ustawowe wymagania stawiane rozprawom doktorskim i może być podstawą do nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo w postępowaniu prowadzonym na podstawie Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. Dlatego wnoszę do Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie jej do publicznej obrony.


Prof. dr hab. inż. Adam Roman