Dr hab. Karol Giejdasz
Katedra Zoologii, Pracownia Pszczelnictwa
Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska polskiego 71C
60-625 Poznań

Poznań dnia, 20.06.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr inż. Piotra Dziechciarza
„Możliwości modelowania cech pszczół i rodzin pszczelich przy pomocy plastrów o małej i standardowej szerokości komórek"
wykonanej w Instytucie Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
pod kierunkiem dr hab. Krzysztofa Olszewskiego prof. uczelni

Recenzję rozprawy doktorskiej wykonano w odpowiedzi na pisemną prośbę Pani profesor dr hab. Brygidy Śląskiej, Przewodniczącej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 18.05.2022 i na podstawie uzyskanego egzemplarz rozprawy autorstwa Pana mgr inż. Piotra Dziechciarza.

1. Zarys problematyki badawczej

W technologii pasiecznej powszechnie wykorzystywana jest węza o wystandaryzowanej szerokości komórki. Bezpośrednią konsekwencją stosowana węzy jest wymuszenie odbudowy komórek o określonych wymiarach. W praktyce najczęściej stosujemy węzę standardową o szerokości komórki 5.5 mm. Zarys komórek węzy może mieć także szerokość 4,9 mm (komórka mała) i 5,1 mm (komórka pośrednia). Stosowanie standardowej węzy prowadzi do ujednolicenia rozmiaru komórek plastra i dodatkowo do zwiększenie ich szerokości. Natomiast wymiary komórek woszczyny budowanej naturalnie są znacznie bardziej zróżnicowana i zbliżona wymiarami do komórki małej. Główne korzyści wynikające ze stosowania węzy to bardziej wytrzymały i równo odbudowany plaster, z którego łatwiej pozyskać miód. Upowszechniając węzę kierowano się głównie przesłankami technologicznymi, natomiast nie uwzględniono konsekwencji jej stosowania dla rozwoju pszczół i ich funkcjonowania. Badania naukowe wskazują, że małe komórki redukują wymiary ciała pszczół, natomiast w rodzinie, która posiada plastry zbudowane z takich komórek zachowania higieniczne robotnic nasilają się, ich długość życia wydłuża, pszczoły są mniej podatne na infekcję *Varroa destructor*.

Podjęta w pracy doktorskiej problematyka badawcza zakresem obejmuje ocenę różnych następstw rozwoju pszczół w komórkach plastra o zmiennych rozmiarach, które dotyczą struktur morfologicznych pszczół oraz funkcjonowanie robotnic na poziomie indywidualnym lub w interakcji z innymi osobnikami w rodzinie.

2. Opis i ocena rozprawy doktorskie

Przedłożona do oceny rozprawa doktorską Pana mgr inż. Piotra Dziechciarza zatytułowana „Możliwości modelowania cech pszczół i rodzin pszczelich przy pomocy plastrów o małej

i standardowej szerokości komórek" stanowi zbiór trzech tematycznie powiązanych artykułów naukowych, które opublikowano w indeksowanych czasopismach naukowych o współczynniku oddziaływania (*IF*) wynoszącym według bazy Journal Citation Report od 2,318 do 2, 758 w roku wydania publikacji. Na zbór artykułów składają się następujące publikacje:

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.
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(8), 978.
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(4), 418.

Mg inż. Piotr Dziechciarz wymieniany jest jako pierwszy autor we wszystkich opublikowanych pracach, a Jego autorski udział w pracach jest dominujący. Zgodnie z oświadczeniami Doktoranta i współautorów, indywidualny wkład pracy Doktoranta w powstanie publikacji wynosi odpowiednio 65%; 75%; 75%. Oświadczenie Pana Piotra Dziechciarza oraz deklaracje udziału współautorów opublikowanych prac potwierdzają, że Doktorant uczestniczył w każdym etapie projektowania, wykonania badań i powstawania artykułów naukowych. We wszystkich pracach Doktorant ma swój udział w sformułowaniu koncepcji badawczej, zaplanowaniu i wykonaniu doświadczenia redagowaniu manuskryptu oraz przeprowadzeniu dyskusji. Wykonał także korektę dwóch pac po recenzjach, gromadził materiał do badań i wykonał analizy laboratoryjne, a także przeprowadził analizę danych. Bez wątpienia zaangażowanie Pana P. Dziechciarza w badania i proces wydawniczy, którego efektem są publikacje, należy ocenić bardzo wysoko. Rozprawa powstała w oparciu o opublikowane artykuły, które zostały pozytywnie ocenione merytorycznie w procesie wydawniczy przez niezależnych ekspertów, co bez wątpienia dowodzi ich dużej wartości naukowej.

2.1. Układ rozprawy doktorskiej

Na ocenianą rozprawę doktorską składają się: strona tytułowa, oświadczenia promotora oraz autora rozprawy, spis treści maszynopisu rozprawy, wykaz prac naukowych stanowiących podstawę do opracowania rozprawy doktorskiej poszerzony o dane bibliometryczne oraz indywidualny wkład pracy Doktoranta, streszczenie w języku polskim, streszczenie w języku angielskim, kolejne rozdziały maszynopisu rozprawy, pełne teksty prac naukowych oraz oświadczenia o współautorstwie. Zastosowany układ pracy jest odpowiedni do przyjętej formy rozprawy doktorskiej – cyklu publikacji. Należy zaznaczyć, że maszynopis rozprawy nie jest samodzielną dysertacji i powinno się go interpretować wyłącznie w kontekście opublikowanych artykułów.

Maszynopis rozprawy składa się z czterdziestu czterech stron napisanych w języku polskim z zastosowaniem słownictwa naukowego i powstał w oparciu o trzy artykuły naukowe opublikowane w czasopismach anglojęzycznych, które stanowią integralną część rozprawy doktorskie. Warto podkreślić, że oceniane opracowanie ma charakter naukowo-badawczy i zostało przygotowane zgodnie z zasadami pisania tekstu naukowego.

Doktorant zastosował tradycyjny układ dysertacji odpowiedni dla prac o charakterze badawczym, który wyróżnia: wstęp, hipotezy pracy, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusję, wnioski i piśmiennictwo. Autor stosuje trzypoziomowy system numeracji rozdziałów i podrozdziałów co bardzo ułatwia analizę tekstu lub odwoływanie się do oryginalnych prac „Wstęp", który podzielono na cztery podrozdziały, umiejętnie wprowadza czytelnika w problematykę badawczą rozprawy. W kolejnym rozdziale Autor jasno formułuje cztery hipotezy przyczynowo-skutkowe oraz cel rozprawy. W rozdziałach „Materiał i metody" oraz „Wyniki" wydzielono po trzy podrozdziały odpowiadające opublikowanym artykułom. Kolejność prezentowanych prac jest zgodna z chronologią prac badawczych, które realizowano w latach 2019-2021. W rozdziale „Wyniki" Doktorant konsekwentnie udowadnia hipotezy pracy i realizuje cel rozprawy. Z kolei „Dyskusja" skład się z czterech podrozdziałów, w których autor krytycznie interpretuje własne dane, dokonuje trafnych porównań z podobnymi wynikami innych autorów, co w efekcie doprowadza go do poparcia swoich hipotez. Pracę podsumowuje siedem wniosków. Cztery pierwsze są efektem rezultatów zawartych w pierwszej publikacji i dotyczą zależności między wymiarami komórek a cechami morfologicznymi. W oparciu o wyniki pracy drugiej oraz trzeciej powstały dwa kolejne wnioski, które potwierdzają hipotezy o wpływie szerokości komórek plastra na system proteolityczny w hemolimfie robotnic oraz na zachowania higieniczne pszczół. Ostatni wniosek jest uogólnieniem wynikającym z analizy wszystkich prac, które dobrze podsumowuje realizacje głównego celu rozprawy. W tym wniosku Autor zawarł także nową tezę, którą odbieram jako zapowiedź kontynuacji badań. Przyznać należy, że Doktorant dobrze opanował zdolność wnioskowania, co udowadnia trafnie formułując wnioski w oparciu o własne dane.

2.2. Piśmiennictwo

Spis literatury dołączony jako ostatni rozdział manuskryptu zawiera 97 pozycji literaturowych. Natomiast w publikowanych artykułach cytowano kolejno 25, 56 i 51 prac. Prawie wszystkie cytowane prace wydano, w czasopismach naukowych anglojęzycznych o zasięgu międzynarodowym. Zaczerpnięto także cytaty z czterech książek. Piśmiennictwo zostało wyselekcjonowane adekwatnie do zakresu podjętych problemów badawczych. Doktorant skorzystał z literatury najnowszej, a szeroka lista piśmiennictwa pozwoliła na umieszczenie na niej pozycji starszych, ale istotnych dla problematyki badawczej. Zacytowano 25 prac opublikowanych w ciągu ostatnich dziesięciu lat. Natomiast prace opublikowane (73) po 2000 roku stanowią zdecydowaną większość. Poza jedną dysertacją, większość publikacji jest ogólnodostępna, choć można mieć trudności w dotarciu do tych najstarszy. Jednak cytowania tych prac, jak i opracowań książkowych, dla zrozumiej genezy podjętych problemów badawczych, nie można było pominąć.

Doktorant nie ustrzegł się kilku drobnych pomyłek i błędów wskazując autorów cytowania oraz tworząc zestawienie bibliografii. Szczegółowe opis tych uchybień został zamieszczony poniżej. Jednak zasadniczo, spis literatury w maszynopisie rozprawy wykonano prawidłowo stosując prosty i bardzo zwięzły styl bibliograficzny MLA, dodatkowo wyróżniając rok publikacji pogrubioną czcionką. Dane bibliograficzne są kompletne, uwzględniono także numer DOI. Warto podkreślić, że doktorant w maszynopisie rozprawy raz jeszcze uwzględnił w cytowaniu prawie wszystkie artykuły składające się na bibliografie publikowanych prac, co tylko potwierdza dobrą znajomość literatury przedmiotu.

2.3. Cel pracy i hipotezy badawcze

Cel pracy został jasno sprecyzowana w rozdziale 3. na stronie 15 i ma następujące brzmienie: „Celem pracy była ocena możliwości modelowania cech pszczół i rodzin pszczelich przy pomocy plastrów o małej i standardowej szerokość komórek. Analizowano wpływ połączenia plastrów o małych i o standardowych komórkach w tej samej rodzinie pszczelej na: cechy morfometrycznej robotnic, aktywności układu proteolitycznego w hemolimfie robotnic oraz efektywność zachowania higienicznego rodziny wobec martwego czerwiu."

Wyraźnie został wyróżniony główny cel rozprawy doktorskiej oraz trzy cele pośrednie. Do ich realizacji przyjęto cztery hipotezy, które przedstawiono w rozdziale 2. na stronie 15, nadając im brzmienie:

- 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
- szerokość komórek plastrów, w których są wychowane robotnice istotnie wpływa na stężenie białka ogólnego oraz aktywność proteaz i ich inhibitorów w hemolimfie robotnic
- martwy czerw robotnic jest efektywniej usuwany z plastrów o małych komórkach niż z plastrów o standardowych komórkach
- jednoczesne utrzymanie rodzin pszczelich na plastrach o małych i o standardowych komórkach jest skutecznym narzędziem modyfikowania cech pszczół i rodzin pszczelich

Hipotezy zostały zweryfikowane i potwierdzone w drodze przeprowadzonych doświadczeń i sprawdzeniu ich rezultatów. Jestem zdania, że przyjęte hipotezy są hipotezami naukowy, a wykazanie ich słuszności ma znaczenie poznawcza i praktyczne. Cel poznawczy pracy został zrealizowany w pełni czego efektem są wnioski zawarte w rozdziale 7.

2.4. Metody badawcze

Wszystkie eksperymenty wymagały od Doktoranta zaplanowania i przeprowadzenia doświadczeń w pasiece oraz wykonania pomiarów i analiz w laboratorium. Dobrze przemyślany układ doświadczeń pozwolił na ocenę oddziaływania jednego lub dwóch czynników doświadczalnych, uwzględniając także interakcję. Poprawnie zaplanowane i rzetelnie wykonane eksperymenty, umożliwiły zbadanie efektu wielkości komórki plastra i efektu rodziny utrzymywanej na plastrach o małej lub standardowej wielkości komórek. Doktorant umiejętnie tworzy grupy doświadczalne i stosuje rozwiązania techniczne dla wychowu robotnic, aby stworzyć obiektywne warunki weryfikacji hipotez w drodze eksperymentów.

Wykonanie badań w laboratorium wymagało od Doktoranta umiejętności posługiwaniem się różnymi technikami badawczymi. Pomiary morfometryczne wykonano w obrazie makroskopowym przy użyciu stereomikroskopu Olympus SZX16. Pomiary części ciała poprzedzało preparowanie, które jest czasochłonne, wymaga dużych umiejętności manualnych i znajomości morfologii owada. Na uznanie zasługuje duża liczba wykonanych pomiarów oraz pobranych prób hemolimfy. Wykorzystane zostały także dwa programy analizy obrazu do wykonania pomiarów szerokości komórek oraz zliczania komórek nieodsklepionych i całkowicie wyczyszczonych.

Gijde

Wykonanie analiz hemolimfy robotnic w drugim doświadczeniu wymagało od doktoranta dużego rozeznania metod analitycznych i technik laboratoryjnych. Do określenia stężenia białka ogólnego w hemolimfie zastosowano czułą metodę kolorymetryczną (Lowry i n. 1951) przystosowaną do oznaczania małych ilości białka w próbie (Schecterle i Pollacka 1973). Oznaczanie poziomu enzymów proteolitycznych oraz inhibitorów proteaz wykonano według metod stosowanych w enzymologii do określania poziomu aktywności tych białek. Próbki hemolimfy badano pod kątem aktywności proteaz zgodnie z metodą Anson'a (1938) oraz pod kątem aktywności inhibitora proteazy według metody Lee i Lin (1995). Analizy wykonano dzieląc enzymy na trzy grupy pod względem odczynu roztworu (kwaśny, obojętny, zasadowy), w którym wykazują najwyższą aktywność. W obydwóch metodach, pomiar absorbcji uzyskanych prób roztworu przeprowadzono za pomocą spektrofotometru. Wybór spektrofotometrii uwiarygadnia wyniki analiz, ponieważ jest to metoda cechująca się dużą czułością, precyzją i selektywnością oznaczeń.

2.5. Wyniki badań

W rozdziałach rozprawy „Wyniki" i „Dyskusja" Autor przedstawił wyniki badań i dokonał ich omówienia na podstawie trzech opublikowanych prac. W pierwszej pracy potwierdzono, że wychów robotnic w małych komórkach plastra może redukować masę lub rozmiary niektórych części ciała, jednocześnie ten negatywny efekt może kompensować wychów czerwiu w rodzinie, składającej się z robotnic, które rozwijały się w komórkach standardowych. Udowodniono, że zmienność tych cech jest mała, a przy użyciu plastra pszczelego nie można w znaczny sposób regulować wielkości pszczół. Wnikliwa analiza pozwoliła wykazać, że stosując małe komórki wzrasta współczynnik ich wypełnienia, efekt wzmocniony zostaje, kiedy czerw w małych komórkach wychowywany jest przez robotnice pochodzące z komórek standardowych. Mając na uwadze, że współczynnik wypełnienia komórki może być jednym z czynników, który determinuje wzrost odporności względem roztocza *V. destruktor*, przedstawione wyniki mają duże znaczenie praktyczne.

W pracy drugiej oceniono wpływ szerokości komórki, w której rozwijają się robotnice, na koncentrację białek, aktywność enzymów proteolitycznych i inhibitorów proteaz w hemolimfie pszczół. W badaniach uwzględniono także efekt wieku robotnic oraz sezonu (badanie prowadzono przez trzy lata). Stosując złożoną analizą statystyczną potwierdzono istotny wpływ badanych czynników na aktywność systemu proteolitycznego i określono charaktery tych zmian. Interpretacja tych wyników doprowadza do ważnych konkluzji. Szerokość komórki wpływa na poziom białek i aktywność enzymów. Te fizjologiczne parametry zmieniają się u robotnic zależnie od ich wieku i wykonywanych zadań. Sugeruje to, że szerokość komórki może być czynnikiem zewnętrznym, który pośrednio determinuje funkcje pszczół w rodzinie. Praca ma duże walory poznawcze i dostarcza nowej wiedzy z zakresu fizjologii pszczół jak i biologii owadów społecznych.

W trzeciej pracy Autor ocenia zachowania higieniczne pszczół robotnic w rodzinie, której gniazdo składa się z plastrów o dwóch szerokościach komórek (małej i standardowej). Pszczoły bardziej efektywnie usuwały martwy czerw z komórek małych i pozostawiały na tym plastrze mniej nieodsklepionych komórek. Usuwanie martwego czerwiu jest elementem odporności behawioralnej pszczół. W tym kontekście, uzyskane wynik nabierają znaczenia praktycznego,

a praca oferują nowe rozwiązanie stymulujące zachowania higieniczne robotnic, co może podnieść odporność rodziny pszczelej na choroby i pasożyty.

2.6. Uwagi

Zaznaczam, że nie znajduję uchybień w dobrze metod badawczych, jednak proszę o doprecyzowanie następujących kwestii:

1. Dlaczego w doświadczeniach przeprowadzonych w ramach pracy pierwszej uwzględniono efekt rodziny, natomiast w pracy drugiej i trzeciej użyto tylko rodziny wychowujące, utrzymywane jednocześnie na plastrach z komórkami małymi i standardowymi?
2. Dlaczego dla uzyskania potwierdzenia istotności różnicy szerokości między komórkami małymi i standardowymi stosowano różne testy statystyczne?
3. W jaki sposób technicznie wykonano pomiary pod mikroskopem stereoskopowym? Jak wyznaczono punkty pomiarowe na tułowiu?

Przygotowując listę publikacji, a następnie cytując je Autor popełnił kilka redakcyjnych błędów.

W spisie piśmiennictwie nie zamieszczono następujących pozycji:

- strona 12. Stachecka i Grzywnowicz (2008); Strachecka i in. (2014: 2015),
- strona 20. Anson (1938); Strachecka i in (2011),

Publikacja Strachecka, Paleolog, Grzywnowicz (2008) nie zostały zacytowane

Wymienione prace znajdują się w spisie bibliografii załączonej pracy drugiej i zostały zacytowane prawidłowo.

W pozycji 34. oraz 56. spisu literatury błędnie zapisano pełną nazwę czasopisma lub jej formę skróconą: *Archiv f Bienen* oraz *Archiv. f. Bienen.*

Prace Kanost i Jiang (2015) oraz Serra-Bonvehi oraz Oorantes-Bermenjo (2010) zostały zacytowanie prawdopodobnie jako Kanost i in. (2015) oraz Serra-Bonvehi i in. (2010).

W zestawieniu bibliografii rozprawy zastosowano dwa sposoby rozdzielania nazwisk przecinkiem lub średnikiem.

Nazwę czasopisma *Elife* napisano małą literą (pozycja 67. w spisie literatury)

Podkreślam, że uchybienia, na które wskazałem nie pomniejszają wartości merytorycznej rozprawy.

3. Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska stanowi zbiór powiązanych tematycznie artykułów naukowych, w których Autor przeanalizował zależności między wymiarami komórek roboczych plastra a cechami pszczół i rodziny pszczelej. Doktorant wykazał się dobrą znajomością literatury przedmiotu oraz umiejętnością kreatywnego jej wykorzystania. Udowodnił, że potrafi zastosować metody badawcze właściwe dla podjętej problematyki, prawidłowo zaplanować i przeprowadzić eksperyment oraz poprawnie zweryfikować jego wyniki.

Podsumowując, należy uznać, że rozprawa doktorska Pana mgr inż. Piotra Dziechciarza pt. „Możliwości modelowania cech pszczół i rodzin pszczelich przy pomocy plastrów o małej i standardowej szerokości komórek" stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w zakresie dyscypliny naukowej – zootechnika i rybactwo oraz potwierdza nabycie umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy badawczej.

Gilida

Stwierdzam tym samym, że oceniana przeze mnie rozprawa doktorska, spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) i przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wniosek o dopuszczenie Pana mgr inż. Piotra Dziechciarza do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Biorąc pod uwagę wysoki poziom recenzowanej rozprawy – jej walory naukowe zostały udokumentowane publikacjami, znaczenie przeprowadzonych badań oraz duży wkład pracy i zaangażowania Doktoranta, wnioskuje o wyróżnienie pracy doktorskiej Pana mgr inż. Piotra Dziechciarza.

Karol Giejdasz

Poznań dnia, 20.06.2022 r.