



UNIwersytet
WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE

dr hab.

Małgorzata Dmitryjuk, prof. UWM

KATEDRA BIOCHEMII

WYDZIAŁ BIOLOGII I BIOTECHNOLOGII

Olsztyn, dnia 19 maja 2025 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgra. Macieja Sylwestra Brysia

pt.

Morfologiczno-biochemiczne zmiany w ciele tłuszczowym *Apis mellifera* L. pod wpływem różnych diet monopyłkowych

przygotowanej pod kierunkiem Promotor – prof. dr hab. Anety Stracheckiej

z

Katedry Ekofizjologii Bezkręgowców i Biologii Eksperymentalnej,
Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Podstawą wydania opinii jest pismo prof. dr hab. Tomasza Mieczana – Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, z dnia 25-go kwietnia 2025 r. (NE.5200.7.1.2025) i dokumentacja w postaci papierowej i elektronicznej wersji pracy doktorskiej.

Mgr Maciej Sylwester Bryś przedstawił do oceny rozprawę doktorską pt.: "**Morfologiczno-biochemiczne zmiany w ciele tłuszczowym *Apis mellifera* L. pod wpływem różnych diet monopyłkowych**", składającą się z cyklu trzech powiązanych tematycznie prac oryginalnych, dwóch opublikowanych w latach 2024-2025, oraz jednej w trakcie procesu redakcyjnego (major revision), w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) posiadających wskaźnik oddziaływania Impact Factor (IF):

1. **Bryś M.S.**, Staniec B., Strachecka A. The effect of pollen monodiets on fat body morphology parameters and energy substrate levels in the fat body and hemolymph of *Apis mellifera* L. workers; 2024, Scientific Reports, 14; DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-64598-0>; 140 pkt MNiSW, IF₂₀₂₄ = 3,8
2. **Bryś M.S.**, Bartoń M., Olszewski K., Strachecka A. Changes in the activities of antioxidant enzymes in the fat body and hemolymph of *Apis mellifera* L. due to pollen monodiets; 2025, Antioxidants, 14(1), 69; DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox14010069>; 100 pkt MNiSW, IF₂₀₂₄ = 6,0
3. **Bryś M.S.**, Olszewski K., Strachecka A. The relationship between pollen monodiets and the activities of proteolytic systems in the fat body and hemolymph of honey bees workers; w trakcie procesu redakcyjnego; major revision (PLOS One); 100 pkt MNiSW, IF₂₀₂₄ = 2,9

Łączny IF opublikowanych prac zaliczonych do ocenianego cyklu jest wysoki i wynosi IF = 9,8 (240 pkt MNiSW), wraz z pracą oczekującą na opublikowanie wyniesie IF = 12,7 (340 pkt MNiSW).



KATEDRA BIOCHEMII
UNIwersytet WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE
ul. Michała Oczapowskiego 1a, 10-719 Olsztyn
m.dmit@uwm.edu.pl
tel. (89) 523 37 20
www.uwm.edu.pl/biolbioch

M.Dmit



Przedstawione prace są kilku-autorskie, w których mgr Maciej Bryś jest pierwszym i korespondencyjnym autorem. Według załączonych oświadczeń, wkład Doktorantka w powstanie publikacji był wiodący i wynosił 80-85%, polegał na ustaleniu koncepcji prac, sformułowaniu hipotez, wykonaniu analiz laboratoryjnych, przygotowaniu publikacji, korekcie manuskryptów oraz sformułowaniu odpowiedzi dla recenzentów na wszystkich etapach recenzji. Pozostali współautorzy określili swój udział w powstanie publikacji i podpisując oświadczenia zaakceptowali wiodący wkład Doktoranta w powyższy cykl publikacji przedłożony jako rozprawa doktorska.

W przedstawionej do oceny pracy doktorskiej, zbiór trzech publikacji jest poprzedzony Autoreferatem Rozprawy w języku polskim rozmieszczonym na 56 stronach, który zawiera: *1-2. Streszczenie w języku polskim i angielskim, 3. Wprowadzenie teoretyczne, 4. Hipotezy i cele badawcze, 5. Materiały i metody, 6. Omówienie wyników i dyskusja, 7. Stwierdzenia i wnioski, 8. Bibliografia. Oświadczenia współautorów stanowią Załącznik 1 zaś Publikacje wchodzące w skład pracy doktorskiej – Załącznik 2.* Na końcu pracy Autor dysertacji zamieścił *Aneks*, w którym przedstawił: *I. Wykaz osiągnięć naukowych, II. Wykaz doniesień konferencyjnych, III. Wykaz uczestnictwa w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane ze źródeł zewnętrznych, IV. Staże krajowe i zagraniczne, V. Wykaz udziału w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych i międzynarodowych, VI. Wykaz ukończonych kursów i szkoleń, VII. Wykaz członkostwa w organizacjach i towarzystwach naukowych, VIII. Promocja i popularyzacja nauki, IX. Nagrody i wyróżnienia, X. Wskaźniki bibliometryczne na dzień 15.04.2025 r.*

Publikacje są ułożone chronologicznie, zgodnie z kolejnością opublikowania. Publikacje wraz ze związłym wprowadzeniem, omówieniem metod, najważniejszych wyników i wniosków stanowią istotę nowoczesnej pracy doktorskiej. Praca ma przejrzystą, nieprzeładowaną strukturę i jest napisana poprawnym językiem naukowym. Wszystkie publikacje składające się na dysertację doktorską ukazały/ukazą się w recenzowanych czasopismach naukowych, w których już wcześniej redakcje czasopism i recenzenci dokonali ich oceny merytorycznej. Tematyka zaliczonych do cyklu prac jest spójna i dotyczy zmian morfologiczno-biochemicznych w ciele tłuszczowym pszczoły miodnej pod wpływem diet monopyłkowych. Cykl trzech publikacji zaliczonych do dysertacji poprzedzony jest publikacją wprowadzającą (o charakterze przeglądowym) w kontekst badań (niewchodząca w cykl badań eksperymentalnych):

Bryś M.S., Strachecka A. The key role of amino acids in pollen quality and honey bee physiology—a review; 2024, *Molecules*, 29(11), 2605; <https://doi.org/10.3390/molecules29112605>, 140 pkt MNiSW, IF₂₀₂₄ = 4,2

Podsumowując formalną ocenę recenzowanej rozprawy doktorskiej uważam, że posiada ona właściwą, przejrzystą strukturę, jest napisana poprawnym językiem naukowym i w pełni spełnia wymogi formalne stawiane pracom doktorskim.

ZNACZENIE PODJĘTEJ PROBLEMATYKI BADAWCZEJ

Podjęte przez Doktoranta badania mają nie tylko istotny wymiar poznawczy i naukowy, ale również praktyczny. Pyłek pszczeli stanowi podstawowe źródło białek, aminokwasów, tłuszczów oraz innych związków odżywczych, co czyni go kluczowym elementem diety owadów zapylających. Wielkoobszarowe gospodarstwa rolnicze oraz zanikanie bioróżnorodności roślinnej narażają owady zapylające na korzystanie z jednego (tzw. monodiety) lub kilku ograniczonych zasobów pokarmowych. Silna antropopresja, czynniki środowiskowe oraz zmiany klimatyczne wpływają na wartość odżywczą pyłków, zwłaszcza tych pochodzących od roślin tego samego gatunku, co ma bezpośredni wpływ na metabolizm, odporność i ogólną kondycję owadów zapylających.



Analiza tego zagadnienia wpisuje się w nurt badań związanych z nutrifizjologią owadów, czyli nauką zajmującą się relacją pomiędzy dietą a funkcjonowaniem organizmu owadów. Wiadomo, że cechy morfologiczne oraz aktywność związków metabolicznie ważnych różnią się w zależności od segmentów/lokalizacji ciała tłuszczowego. W związku z tym istotne jest zrozumienie, w jaki sposób dieta pyłkowa wpływa na morfologię, stężenia substratów energetycznych, aktywność enzymów antyoksydacyjnych i proteolitycznych w poszczególnych segmentach ciała tłuszczowego. Takie informacje mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia mechanizmów adaptacyjnych owadów do zmieniającego się środowiska oraz do wypracowania skuteczniejszych strategii wspierających ich zdrowie i wydajność.

Nie ulega wątpliwości, że dieta wielopyłkowa jest bardziej wartościowa dla pszczoł, ponieważ zapewnia szerszy zakres składników odżywczych i korzystniej wpływa na ich odporność oraz kondycję. Jednakże, aby w pełni zrozumieć mechanizmy biochemiczne, fizjologiczne, anatomopatologiczne i ekofizjologiczne związane z dietą owadów, zasadnym wydaje się rozpatrywanie również wpływu monodiet na ich organizm. Wybór monodiet pyłkowych przez Doktoranta był podyktowany powszechnym występowaniem takich roślin jak leszczyna, rzepak, sosna, facelia, gryka i nawłóć w klimacie umiarkowanym. Ponadto, rośliny te stanowią dominujące źródło pożywienia dla pszczoł od wczesnej wiosny do późnej jesieni, co czyni je istotnym elementem analizy ich wpływu na zdrowie i funkcjonowanie owadów zapylających. Badania te mogą przyczynić się do rozwoju strategii zarządzania pasiekami i ochrony bioróżnorodności, a także promowania praktyk rolniczych sprzyjających zrównoważonemu rozwojowi populacji pszczoł.

ANALIZA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Na początku dysertacji Autor zamieścił *Wprowadzenie teoretyczne*, obejmujące omówienie problematyki badawczej. Rozdział przedstawia szczegółową i kompleksową analizę problematyki odporności oraz biochemii pszczoł, skupiając się na wpływie czynników środowiskowych, diety oraz mechanizmów homeostazy. Autor wprowadza czytelnika w tematykę, rozpoczynając od omówienia zagrożeń dla pszczoł związanych z działalnością człowieka i postępem industrializacji, co stanowi solidną podstawę dla dalszej analizy. Podkreśla, że działalność dużych gospodarstw wielkoobszarowych i postępująca industrializacja sprzyjają zanikowi bioróżnorodności roślin, co osłabia zbilansowaną dietę owadów zapylających i naraża pszczoły na stres żywieniowy. To z kolei obniża ich odporność i zmienia metabolizm. Doktorant szczegółowo opisuje mechanizmy odporności indywidualnej pszczoł, obejmujące bariery anatomiczno-fizjologiczne, odporność komórkową oraz odporność humoralną, w tym: system proteolityczny, system antyoksydacyjny i markery biochemiczne oraz białka odpornościowe hemolimfy.

Ze względu na kluczową rolę biochemicznej linii odporności, Autor zdecydował się skoncentrować na tych mechanizmach w swojej pracy. W dalszej części wprowadzenia mgr M. Bryś omawia system proteolityczny u pszczoł (proteazy i inhibitory proteaz), bodźce stresowe (biotyczne, abiotyczne i antropogeniczne) oraz stres oksydacyjny, który prowadzi do uszkodzenia organelli i struktur komórkowych, przez co wywołuje zaburzenia homeostazy. Zwraca uwagę, że aktywność systemu antyoksydacyjnego i proteolitycznego zależy od wielu czynników, takich jak kasta, stan fizjologiczny, wiek czy wpływ czynników antropogenicznych. Za główny ośrodek kształtujący układ odpornościowy pszczoł uważa się ciało tłuszczowe, którego morfologia u robotnic różni się w zależności od segmentu, zwłaszcza tergity 3 i 5 oraz sternitu. Autor podjął analizę tej tematyki u młodych pszczoł gniazdowych w wieku od 1 do 14 dni, odpowiedzialnych za karmienie kolejnego pokolenia ze względu na fakt, że jakość mleczka pszczelego, produkowanego przez karmicielki, zależy od ich diety, vitalności i zdrowia.

W dalszej części wprowadzenia Autor omawia charakterystykę i dostępność pyłków pochodzących z kwiatostanów leszczyny, rzepaku, sosny zwyczajnej, facelii, gryki zwyczajnej i nawłoci.



Zagadnienie jakości pyłku, w kontekście monodiety, Autor szerzej przedstawił w publikacji przeglądowej (Publikacja P0). Niezbilansowana dieta może prowadzić do zaburzeń metabolicznych, osłabienia odpowiedzi immunologicznej, spadku masy ciała oraz przedwczesnego starzenia się pszczół. Spożycie pyłku stymuluje rozwój gruczołów gardzieliowych, wpływa na liczbę i rodzaj hemocytów, a także na funkcję jelita środkowego. Aminokwasy zawarte w pyłku pobudzają produkcję hormonów, neuroprzekazników, uczestniczą w termoregulacji i są intermediami wielu szlaków biochemicznych, w tym odpornościowych. Egzogenne aminokwasy dostarczane z dietą warunkują ekspresję genów odpornościowych, a związki peptydowe, takie jak defesyna i apidyczna, wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe, hamując rozwój bakterii, wirusów i grzybów.

Na zakończenie rozdziału Autor omówił funkcje ciała tłuszczowego, które magazynuje substraty energetyczne, jest endokrynnie aktywne, produkuje hormony i bierze udział w procesach detoksykacji. Morfologiczne cechy i aktywność metabolitów tego narządu różnią się w zależności od segmentu i lokalizacji. Zdaniem Autora, dieta wielopyłkowa jest najbardziej korzystna dla pszczół, jednak do pełnego zrozumienia mechanizmów biochemicznych, fizjologicznych i ekologicznych, warto rozważyć także wpływ monodiety na morfologiczno-biochemiczne zmiany w ciele tłuszczowym pszczoły miodnej, co uzasadnia podjęcie badań w tym zakresie.

Podsumowując, **Wprowadzenie teoretyczne** jest rozdziałem dobrze napisanym, zawiera bogate i szczegółowe informacje na temat odporności pszczół, wpływu diety i czynników środowiskowych na ich funkcjonowanie. Tekst obejmuje zarówno zagadnienia ekologiczne, jak i biochemiczne, co pozwala na pełniejsze zrozumienie funkcjonowania układu odpornościowego pszczół. Szczegółowy opis mechanizmów odporności, takich jak bariery anatomiczno-fizjologiczne, odporność komórkowa i humoralna, a także rola systemów proteolitycznego i antyoksydacyjnego, świadczy o głębokiej analizie tematu. Zwrócenie uwagi na wpływ pyłku, szczególnie monodiety, na morfologię i biochemiczne parametry ciała tłuszczowego pszczół, jest cenne w kontekście badań nad odżywianiem owadów zapylających. Prawidłowy dobór i wnikliwa analiza wcześniejszych doniesień literaturowych wzmacnia wiarygodność i kontekst naukowy tego rozdziału dysertacji.

W kolejnym rozdziale Autoreferatu mgr M. Bryś przedstawił **Hipotezy i cele badawcze**. Autor zaproponował cztery hipotezy badawcze:

H1: Pyłek roślin owadopylnych (rzepak, facelia, gryka i nawłóć) i wiatropylanych (leszczyna i sosna) w aspekcie monodiety w odmienny sposób wpływa na morfologię subkutikularnego ciała tłuszczowego z tergitu 3, tergitu 5 i sternitu u 7- i 14-dniowych pszczół robotnic.

H2: Pyłki rzepaku, facelii, gryki i nawłoci (pyłki roślin owadopylnych), w porównaniu do pyłków leszczyny i sosny (pyłki roślin wiatropylanych), bardziej zwiększają stężenia substratów rezerw energetycznych w określonych lokalizacjach/segmentach ciała tłuszczowego pszczół.

H3: Pyłek roślin owadopylnych w większym stopniu wpływa na aktywację systemów: antyoksydacyjnego i proteolitycznego w ciałach tłuszczowych (z tergitu 3, tergitu 5 i sternitu) robotnic w porównaniu z pyłkiem produkowanym przez rośliny wiatropylne.

H4: Dieta pyłkowa, nawet w ujęciu monodiety, wpływa stymulująco na biochemiczne mechanizmy odporności w subkutikularnym ciele tłuszczowym w przeciwieństwie do diety opartej tylko na pokarmie węglowodanowym.

Zaproponowane przez Autora hipotezy są sformułowane jasno i precyzyjnie. Wskazują na konkretne zjawiska, które da się zmierzyć za pomocą dostępnych metod analitycznych. Umożliwiają porównania między grupami i rozważają zmienne czasowe i biochemiczne. Ich sformułowania są odpowiednie do celów badawczych w dziedzinie ekologii, biochemii i fizjologii pszczół. Dodatkowo, hipotezy są odpowiednie do przeprowadzenia zaproponowanego badania naukowego.



Aby zweryfikować powyższe hipotezy badawcze mgr M. Bryś sformułował cztery podstawowe cele badawcze:

C1: Określenie wpływu 10% dodatku pyłku z poszczególnych roślin (leszczyna, rzepak, sosna, facelia, gryka, nawłóć) w diecie pszczoł na długość i szerokość trofocytów oraz na średnicę jąder enocytów we wszystkich segmentach subkutikularnego ciała tłuszczowego (Publikacja P1).

C2: Określenie stężenia glukozy, triacylogliceroli, białka całkowitego i glikogenu w tergicie 3, tergicie 5 i sternicie ciała tłuszczowego pod wpływem diet monopyłkowych (Publikacja P1).

C3: Określenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych w cieple tłuszczowym z tergitu 3, tergitu 5 i sternitu u pszczoł robotnic żywionych różnymi dietami monopyłkowymi i porównanie ich do tych karmionych samym ciastem cukrowym (Publikacja P2).

C4: Określenie aktywności proteaz i ich inhibitorów w cieple tłuszczowym z tergitu 3, tergitu 5 i sternitu u pszczoł robotnic karmionych monodietami pyłkowymi i porównanie ich do tych z grupy kontrolnej (bez dodatku pyłku, samo ciasto cukrowe) (Publikacja P3).

Sformułowane przez Autora cele koncentrują się na pomiarze parametrów biochemicznych i histologicznych, pozwalając zweryfikować wpływ diet monopyłkowych na analizowane aspekty fizjologiczne pszczoł. Są dobrze sformułowane i odpowiednio dostosowane do realizacji hipotez.

W rozdziale **Materiały i metody** Autor przedstawił kompleksową metodologię badań nad wpływem pyłków roślinnych na morfologię i funkcje biochemiczne ciała tłuszczowego pszczoł, z naciskiem na kontrolowane warunki laboratoryjne zapewniające precyzyjne i powtarzalne wyniki. Doświadczenia prowadzone w warunkach laboratoryjnych (tzw. „doświadczenie klatkowe”) były przeprowadzone w Katedrze Ekofizjologii Bezkręgowców i Biologii Eksperymentalnej. Używano zarówno własnoręcznie przygotowanych mieszanek cukru z wodą, jak i gotowych ciast cukrowych. Do ciast dodawano 10% obnoży pyłkowych wybranych roślin. Pszczoły trzymano w kontrolowanych warunkach (32°C, 65% wilgotności). Podawano im wybrane diety z różnymi pyłkami, a ich liczba i wiek (1, 7, 14 dni) były standaryzowane. Od każdej pszczoły wycinano ciało tłuszczowe z różnych segmentów. Ciała tłuszczowe dzielono na części do analiz morfologicznych i biochemicznych. Mierzono morfologię komórek trofocytów i enocytów. Tkanki homogenizowano a supernatanty używano do oznaczeń biochemicznych, takich jak stężenie glukozy, triacylogliceroli, glikogenu czy białek. Oceniano również aktywność enzymów antyoksydacyjnych (SOD, katalaza, GSH-peroksydaza, GST) oraz proteaz i inhibitorów proteaz. Wyniki analizowano za pomocą poprawnie dobranych testów statystycznych.

Podsumowując rozdział warto zauważyć, że wykorzystane przez Doktoranta metody zostały dobrane prawidłowo i pozwoliły na osiągnięcie zamierzonego celu badań i weryfikację hipotez badawczych.

W rozdziale **Omówienie wyników i dyskusja** Autor zaprezentował kluczowe osiągnięcia z poszczególnych prac wchodzących w skład jego cyklu pracy doktorskiej. Wyniki uzyskane w recenzowanej dysertacji potwierdzają hipotezy badawcze zaproponowane przez Doktoranta. Rozdział zawiera szczegółową analizę badań nad wpływem monodiety pyłkowej na fizjologię i morfologię pszczoły miodnej, ukazując obszerną i wnikliwą interpretację osiągnięć eksperymentalnych w kontekście dostępnej literatury krajowej i światowej. Warto zwrócić uwagę na kilka kluczowych spostrzeżeń, które Autor oraz ja sama uważamy za szczególnie istotne. Po pierwsze, odkrycie, że długość i szerokość trofocytów w różnych segmentach ciała tłuszczowego wzrastały wraz z wiekiem robotnic, niezależnie od rodzaju spożywanego pokarmu (czy to ciasto cukrowe, czy ciasto z pyłkiem), poszerza naszą wiedzę na temat fizjologii i morfologii owadów zapylających. Po drugie, pionierskie dane dotyczące morfologii komórek ciała tłuszczowego u pszczoł letnich mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia mechanizmów różnicowania morfologicznego i funkcjonalnego ciała tłuszczowego w zależności od diety i wieku. Cennym spostrzeżeniem jest zależność między wielkością trofocytów a stężeniem białka – im

większe trofocyty, tym wyższe stężenie białka, co wnosi nowe informacje dotyczące funkcjonalności ciała tłuszczowego. Autor zauważa również, że pyłek roślin wiosennych wspiera pszczele rodziny, dostarczając substratów energetycznych, podczas gdy pyłek jesiennych roślin umożliwia skuteczne magazynowanie tych substratów, co z pewnością wpływa korzystnie na kondycję pszczół zimujących. Badania dotyczące stężeń substratów energetycznych w ciele tłuszczowym młodych pszczół gniazdowych wzbogacają wiedzę na temat roli glukozy, białek i triacylogliceroli w metabolizmie tych owadów oraz w procesach starzenia, w kontekście monodiety jako stresogennej czynnik środowiskowej. Autor podkreśla także praktyczne aspekty swoich badań, pokazując, że mimo stresogennej charakteru monodiety, pszczoły karmione ciastem cukrowym z pyłkiem wykazują wyższą aktywność antyoksydantów w porównaniu do tych, które nie otrzymywały pyłku. Wyniki badań potwierdzają również, że aktywności proteaz i ich inhibitorów są uzależnione od rodzaju pyłku, a pszczoły karmione ciastem z pyłkiem rzepaku, facelii, gryki i nawłoci (roślin owadopylnych) wykazują wyższe wartości w porównaniu do robotnic karmionych pyłkiem leszczyny i sosny (roślin wiatropylnych). Mgr Maciej Bryś wskazał ponadto, że aktywność systemu proteolitycznego wzrastała wraz z wiekiem robotnic, co poszerza naszą wiedzę o funkcjonowaniu tego systemu nie tylko w hemolimfie, ale także w różnych segmentach ciała tłuszczowego młodych pszczół gniazdowych.

Podsumowując powyższy rozdział, należy zauważyć, że opiera się na rzetelnej interpretacji uzyskanych przez Doktoranta wyników doświadczeń, jest bogaty w dane i interpretacje, która znacząco przyczyniają się do wzbogacenia wiedzy o fizjologii pszczół, a także o roli diety w ich zdrowiu i odporności.

W rozdziale **Podsumowanie** Doktorant jasno przedstawił kontekst naukowy i znaczenie badanego zagadnienia, zwracając uwagę na aktualne trendy i luki w wiedzy, zwłaszcza dotyczące ciała tłuszczowego jako kluczowej tkanki wpływającej na kształtowanie odporności pszczół. Podkreśla wkład własnych badań i ich nowatorskość, m.in. w aspekcie segmentacji ciała tłuszczowego, wskazuje na wyniki, które pozwalają na pełne zrozumienie osiągniętych rezultatów. Zwraca również uwagę na praktyczne znaczenie osiągniętych rezultatów na zrozumienie mechanizmów odporności i parametrów biochemicznych w fizjologii i ekologii pszczół. Ważnym elementem podsumowania jest podkreślenie wpływu diety cukrowej wzbogaconej pyłkami na parametry morfologiczne i biochemiczne u pszczół. Moim zdaniem, badania te wnoszą cenne informacje na temat roli diety w fizjologii pszczół, co może mieć odzwierciedlenie w gospodarce pasiecznej oraz w działaniach na rzecz ochrony pszczół.

Rozdział 7 Autoreferatu zatytułowany **Stwierdzenia i wnioski** zawiera osiem wniosków sformułowanych na podstawie uzyskanych wyników oraz cztery stwierdzenia odnoszące się do praktycznych aspektów przeprowadzonych badań. Szczególnie istotnym wnioskiem jest moim zdaniem wniosek ósmy, w którym Doktorant wskazuje na fakt, że pyłek facelii wpływa najbardziej korzystnie na funkcjonowanie ciała tłuszczowego pszczół poprzez silną aktywację systemu proteolitycznego i antyoksydacyjnego oraz zwiększenie rozmiarów trofocytów. Autor trafnie wskazuje na właściwości facelii, której pyłek jest bogaty w białko i może być wykorzystywany przez pszczoły w sytuacji braku innych zasobów pożytkowych na obszarach rolniczych. Aspekt praktyczny prezentowanych badań jest istotny. Zdaniem Autora, niniejsze badania stanowią wkład w opracowanie mieszanki nasiennej, którą można wysiewać w pobliżu rodzin pszczelich w formie łąk kwietnych o wzbogaconym składzie, a także przyczyniają się do opracowania zbilansowanej diety dla pszczół, wykorzystywanej w klatkowych testach laboratoryjnych. Dodatkowo, Doktorant trafnie stwierdza, że stosowanie monodiety może być opłacalne ekonomicznie w celu wiosennej stymulacji rozwoju rodziny pszczelej oraz w okresach bezpożytkowych.

W następnym rozdziale (**8. Bibliografia**) Autor zamieścił alfabetycznie zestawiony spis literatury obejmujący 123 pozycje. Spis został sporządzony rzetelnie i zawiera zarówno pozycje najnowsze, również z 2025 r., jak również te z poprzedniego stulecia. W **Załączniku 1** Autor zamieścił oświadczenia współautorów a **Załącznik 2** stanowią publikacje wchodzące w skład pracy doktorskiej.



Publikacje wchodzące w skład rozprawy

W drugiej części rozprawy Autor zamieścił PDFy publikacji wchodzących w skład rozprawy. Jak wspomniałam na wstępie, wszystkie publikacje składające się na dysertację doktorską ukazały/ukazą się w recenzowanych czasopismach naukowych z listy JCR, w których już wcześniej redakcje czasopism i recenzenci dokonali ich oceny merytorycznej. Prace wchodzące w skład cyklu są pracami bardzo obszernymi. Wyniki zostały opublikowane w trzech powiązanych tematycznie publikacjach, które skupiają się na określeniu monodiet pyłkowych na morfologię komórek oraz na aktywność /stężenie podstawowych parametrów odporności w określonych segmentach/lokalizacjach subktykularnego ciała tłuszczowego robotnic pszczoł miodnych.

W tym miejscu chciałabym uwypuklić najważniejsze osiągnięcia/konkluzje każdej z publikacji wchodzących w skład cyklu.

Publikacja nr 1 (Bryś i in. 2024):

Wyniki uzyskane w tym badaniu wskazują na to, że poszczególne rodzaje pyłku z roślin kwitnących od wczesnej wiosny do późnej jesieni wpływają na morfologię komórek ciała tłuszczowego oraz stężenie związków ważnych dla metabolizmu energetycznego w hemolimfie i ciele tłuszczowym robotnic. Pyłek z roślin wczesnowiosennych dostarcza pszczołom głównie węglowodanów, które są szybko wykorzystywane podczas wychowu pierwszej generacji pszczoł letnich i pracy na rzecz kolonii. Natomiast pyłek z roślin kwitnących późnym latem i wczesną jesienią zwiększa stężenie białek, glikogenu i triacylogliceroli w ciele tłuszczowym, szczególnie w tergicie trzecim. W ten sposób gromadzi się duża ilość związków, co powoduje powiększenie komórek trofocytów.

Publikacja nr 2 (Bryś i in. 2025a):

Wyniki uzyskane podczas analiz opisanych w tej publikacji skłoniły Autorów do sformułowania wniosku, że pyłki różnych roślin, szczególnie z rzepaku, facelii, gryki i nawłoci, mają korzystny wpływ na układ antyoksydacyjny pszczoł, co sprzyja ich zdrowiu i przetrwaniu kolonii. Wiosenna dieta pyłkowa jest kluczowa dla rozwoju pszczoł żyjących w tym okresie, a pyłki letnie i jesienne wspierają kondycję pszczoł zimujących. Wprowadzenie facelii do mieszanek kwiatowych może poprawić natomiast parametry antyoksydacyjne i chronić pszczoły przed szkodliwym wpływem środowiska.

Publikacja nr 3 (Bryś i in. 2025b):

Badania przedstawione w publikacji wykazały, że monodiet w żywieniu pszczoł mają wpływ na ich układ odpornościowy i funkcje biochemiczne. Pszczoły karmione jednym rodzajem pyłku wykazują wyższą aktywność systemu proteolitycznego niż karmione samym cukrem. Dodatek pyłku, szczególnie z roślin takich jak facelia czy rzepak, poprawia te funkcje. Z praktycznego punktu widzenia, dodanie pyłku do ciasta cukrowego jest korzystne ekonomicznie, zwłaszcza w okresach niedoboru pyłku. Dieta wielopyłkowa jest zawsze bardziej wartościowym pokarmem dla pszczoł niż dieta monopyłkowa, ale aby zrozumieć działanie tych mechanizmów, schemat karmienia w kontekście diety monopyłkowej jest niezwykle istotny.

PODSUMOWANIE

Podsumowując, przedstawiona do oceny praca doktorska posiada dużą wartość merytoryczną, jest dobrze skonstruowana, a jej wyniki mogą istotnie przyczynić się do pogłębienia wiedzy na temat wpływu środowiska na zdrowie pszczoł. Zawiera ona dogłębne analizy uzyskanych wyników, opierające się na prawidłowo dobranych metodach analitycznych. Uzyskane rezultaty pozwoliły zweryfikować hipotezy badawcze oraz w pełni osiągnąć założone cele rozprawy. Fakt ten nie budzi moich wątpliwości, ponieważ Doktorant przeprowadzał analizy w doświadczonym i renomowanym zespole badawczym pod



kierunkiem prof. dr hab. Anety Stracheckiej, która od wielu lat specjalizuje się w badaniach nad fizjologią i ekologią pszczół w aspekcie biochemicznym i molekularnym. Współpraca z tak wybitnym ekspertem oraz dostęp do zaawansowanych laboratoriów i szerokiej wiedzy eksperckiej zapewniają wysoką jakość i wiarygodność przeprowadzonych analiz. Ponadto, zespół ten ma na swoim koncie liczne publikacje naukowe w prestiżowych czasopismach oraz udział w krajowych i międzynarodowych konferencjach, co dodatkowo potwierdza ich kompetencje i doświadczenie w dziedzinie badań nad pszczołami.

W zasadzie trudno wskazać w stosunku do recenzowanej rozprawy jakiegokolwiek zarzuty, poza nielicznymi błędami natury redakcyjnej np. **Figura 1** zamiast po prostu **Rycina 1** czy błędnej numeracji rozdziałów – **Bibliografia** stanowi rozdział 8 a nie 7, jak jest w pracy, oraz nielicznych błędów literowych.

W wyniku jedynie ciekawości i powinności recenzenta oraz chęci dyskusji z Doktorantem podczas publicznej obrony, chciałabym prosić o ustosunkowania się do następujących pytań i sugestii podczas obrony:

1. Dlaczego podczas analiz zawartych w publikacji pierwszej stosowano własnoręcznie sporządzane ciasta cukrowe a w dwóch kolejnych wykorzystano ciasta komercyjne?
2. W badaniach niniejszej dysertacji wykorzystano obnóża pyłkowe (pyłek pszczeli) do przygotowania ciast cukrowo-pyłkowych. Prosiłabym o rozwinięcie zagadnienia, dlaczego robotnice pszczoły miodnej bardziej preferują świeży pyłek niż pierzgę.
3. Czy w przyszłości Doktorant planuje kontynuować swoje badania, rozszerzając je o nowe metody i techniki, takie jak badania omiczne (np. genomika, proteomika, metabolomika), które pozwoliłyby na uzyskanie głębszego i bardziej kompleksowego wglądu w badaną problematykę? Jeśli tak, to jakie konkretne cele i kierunki rozwoju widzi w tych planach, oraz jakie korzyści spodziewa się uzyskać dzięki zastosowaniu tych nowoczesnych metod?

Wyżej wymienione uwagi, pytania i sugestie nie umniejszają wartości merytorycznej niniejszej dysertacji ani wysokiej ocenie, jaką z pełnym przekonaniem wystawiam pracy doktorskiej pana mgra Macieja Brysia.

WNIOSKI KOŃCOWE

W świetle wszystkich powyższych argumentów stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska autorstwa mgra. Macieja Brysia w postaci cyklu powiązanych tematycznie trzech publikacji zebranych pod wspólnym tytułem: **"Morfologiczno-biochemiczne zmiany w ciele tłuszczowym *Apis mellifera* L. pod wpływem różnych diet monopyłkowych"** stanowi oryginalne osiągnięcie naukowe, wnosi znaczący wkład w rozwój dyscypliny i spełnia wszystkie wymogi formalne i merytoryczne stawiane pracom doktorskim oraz odpowiada warunkom określonym w art. 187, ust. 1-3 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571).

W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgra. Macieja Brysia do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska wnosi istotny, nowatorski wkład w rozwój reprezentowanej dyscypliny naukowej w wielu aspektach. Cykl publikacji, uzupełniony Autoreferatem, stanowi spójną i przejrzystą całość nowoczesnej pracy doktorskiej. Opublikowane artykuły naukowe, zaliczone do tego cyklu, ukazały się w renomowanych czasopismach indeksowanych w bazie JCR i charakteryzują się wysokim wskaźnikiem oddziaływania IF. Ze względu na wysoką wartość merytoryczną rozprawy, jej obszerny zakres badawczy oraz zastosowanych metod, można ją uznać za



opracowanie kompletne. Pomimo różnorodności użytych technik i dużej liczby uzyskanych wyników, tekst jest napisany poprawnym językiem i posiada uporządkowaną strukturę. Świadczy to o wysokim poziomie dojrzałości naukowej i samodzielności Doktoranta, zarówno w części eksperymentalnej i laboratoryjnej, jak i podczas procesu pisanie pracy. Autor dysertacji jest prężnym młodym naukowcem skutecznie aplikującym o projekty finansowane ze źródeł zewnętrznych oraz doskonalącym swój warsztat badawczy na licznych stażach krajowych i zagranicznych. Potwierdza to również bardzo wartościowy dorobek publikacyjny, organizacyjny i popularyzatorski Doktoranta.

Biorąc pod uwagę powyższe przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wniosek o wyróżnienie niniejszej dysertacji doktorskiej stosowną nagrodą.

.....*Małgorzata Dmityjuk*.....

Olsztyn, dnia 19 maja 2025 r.

