

Wrocław, dn. 16.05.2025r.

Dr hab. inż. Paweł Migdał, prof. uczelni
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt
Instytut Hodowli Zwierząt
Zakład Hodowli Pszczół
Ul. Chełmońskiego 38C
51-630 Wrocław

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Macieja Sylwestra Brysia

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

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

Podstawę formalno–prawną przygotowania recenzji stanowi pismo z dnia 25.04.2025 r. Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie Prof. dr hab. Tomasza Mieczana wskazujące, że w dniu 23.04.2025 roku zostałem powołany na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr Macieja Sylwestra Brysia. Otrzymałem również egzemplarz rozprawy doktorskiej mgr Macieja Sylwestra Brysia.

Celem rozprawy doktorskiej Pana mgr Macieja Sylwestra Brysia jest kompleksowe przebadanie i scharakteryzowanie zmian morfologiczno-biochemicznych w ciele tłuszczowym *Apis mellifera* L. żywionej różnymi dietami monopyłkowymi. Podjęcie takiej tematyki jest bardzo ważne w kontekście postępujących zmian klimatycznych. Rozbudowany panel badawczy i ambitne cele jakie zostały podjęte w ramach przeprowadzonych doświadczeń zostały przedstawione w 3 powiązanych tematycznie publikacjach:

1. **Maciej Sylwester Bryś**, Bernard Staniec, Aneta Strachecka. 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:

10.1038/s41598-024-64598-0, liczba punktów MNiSW: 140, IF₍₂₀₂₄₎: 3,8, udział procentowy Doktoranta wynosił 85%.

2. **Maciej Sylwester Bryś**, Maciej Bartoń, Krzysztof Olszewski, Aneta Strachecka. 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>, liczba punktów MNiSW: 100, IF₍₂₀₂₄₎: 6,0, udział procentowy Doktoranta wynosił 80%.
3. **Maciej Sylwester Bryś**, Krzysztof Olszewski, Aneta Strachecka. 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)*, liczba punktów MNiSW: 100, IF₍₂₀₂₄₎: 2,9, udział procentowy Doktoranta wynosił 85%.

Na uwagę zasługuje fakt opublikowania badań w czasopismach o bardzo wysokiej randze. Potwierdza to fakt, że sumaryczna liczba punktów według komunikatu MNiSW za publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej obowiązującego w 2024 roku wynosi 340 pkt, natomiast sumaryczny Impact Factor publikacji zgodnie z listą Journal Citation Reports z roku 2024: wynosi 12,7. Ponadto w dysertacji w sposób jasny i klarowny przedstawiono, powiązania przyczynowo skutkowe dla poszczególnych publikacji wskazując, której hipotezy i celu dotyczy. Dzięki czemu pracę czyta się w sposób płynny, a poszczególne jej części tworzą logiczną całość. Przedstawiona do recenzji praca doktorska opiera się o opublikowany cykl tematycznie powiązanych publikacji, podzielona jest na 11 rozdziałów głównych, posiada ona typowy układ dla tego typu prac. Rozpoczyna się od strony tytułowej, wskazania cyklu publikacji naukowych składający się na dysertację, który obejmuje 2 strony, następnie znajduje się streszczenia w języku polskim i angielskim zajmujące po 1 stronie każde i zakończone wykazem słów kluczowych. Rozdział wprowadzający czyli wprowadzenie teoretyczne zajmuje 7 stron, cel pracy i hipotezy badawcze zajmują 2 strony, rozdział ten opisuje 4 prawidłowo sformułowane hipotezy badawcze oraz 4 szczegółowe cele powiązane bezpośrednio z przedstawionymi publikacjami. Rozdział materiały i metody badawcze stosowane w doświadczeniu został opisany na 6 stronach. W kolejnych rozdziałach przedstawiono omówienie wyników i ich dyskusję, część ta zajmuje 13 stron. Część badawcza została podsumowana na 2 stronach, końcowe elementy podsumowania trafnie wskazują na wpływ

przeprowadzonych badań na rozwój nauki. Następnie umieszczono rozdział stwierdzenia i wnioski zajmujący dwie strony. Bardzo ciekawym i innowacyjnym rozwiązaniem jest wskazanie aspektu praktycznego przeprowadzonych badań, co stanowi klamrę domykającą całą rozprawę doktorską. Wszelkie szczegóły wyżej opisanych rozdziałów są scharakteryzowane w publikacjach stanowiących integralną część dysertacji. Elementy te tworzą spójną całość zawierającą odwołania do 124 pozycji literaturowych, które ułożone są alfabetycznie w rozdziale bibliografia na 14 stronach. W 9 rozdziale znajdują się oświadczenia współautorów, w rozdziale 10 wykazano spis publikacji wchodzących w skład pracy doktorskiej, natomiast ostatni 11 rozdział stanowi aneks w postaci życiorysu naukowego mgr Macieja Sylwestra Brysia.

Znaczenie podjętego problemu badawczego

Współczesne środowisko życia pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.) stanowi przestrzeń wypełnioną różnymi czynnikami stresogennymi, można do nich zaliczyć pestycydy, pole elektromagnetyczne, zanieczyszczenie środowiska światłem, szczególnie w przestrzeniach miejskich oraz znaczący spadek różnorodności diety. Przyczyną tego ostatniego czynnika często są zmiany klimatu i modyfikacje struktury zasiewów zmierzające w kierunku monokulturowienia upraw rolniczych. Często usuwane są również zadrzewienia śródpolne, które stanowią cenne siedlisko dla wielu gatunków zwierząt, ponadto, są bogate w różne rośliny, stanowiące źródło pokarmu dla rodzin pszczelich. Powyższe zmiany w środowisku naturalnym powodują zubożenie diety pszczoły miodnej i często musi korzystać ona okresowo z jednego gatunku pyłku np. rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.). Stan taki ma negatywny wpływ na ekonomikę produkcji pszczelarskiej. Ponadto oddziałuje na organizm pszczoły miodnej poprzez zaburzenie procesów umożliwiających utrzymanie homeostazy. Różnorodna i zbilansowana dieta pszczoły miodnej składa się m.in. z węglowodanów, białek, tłuszczu, witamin, soli mineralnych i błonnika. Węglowodany stanowią głównie źródło energii, natomiast białko jest niezbędnym surowcem budulcowym. Podstawowym źródłem białka w diecie pszczoły miodnej jest pyłek pszczeli. Nie tylko istotne jest to, aby było dużo pyłku, ważna jest również jego jakość i biodostępność związków w nim zawartych, które mają bezpośrednie przełożenia na funkcjonowanie organizmu pszczoły miodnej. Wobec powyższego mgr Maciej Sylwester Bryś wybrał bardzo istotny temat z punktu widzenia współczesnych wyzwań jakie stoją przed rodziną pszczelą w zmieniającym się dynamicznie środowisku. Temat jest aktualny i stanowi odpowiedź na postulaty płynące z środowiska

pszczelarskiego, poszukującego odpowiedzi na pytania w jaki sposób prowadzić suplementację białkiem w rodzinach pszczelich oraz jakie źródła białka wykorzystywać.

Charakterystyka rozprawy doktorskiej

Tytuł rozprawy doktorskiej jest adekwatny do treści pracy i wskazuje na jej kierunek. Streszczenie w sposób syntetyczny opisuje elementy rozprawy doktorskiej, zawiera skrócony opis metodyczny, najważniejsze wyniki oraz podsumowanie, jakie płyną wnioski z przeprowadzonych badań. Wprowadzenie teoretyczne zawiera ściśle powiązany z pracą opis wybranych zagadnień z biologii rodziny pszczelej i pojedynczych osobników. Bardzo dobrą praktyką zawartą w tym rozdziale jest wskazywanie jakie elementy są kluczowe w kontekście niniejszej rozprawy doktorskiej oraz ich zaznaczanie poprzez podkreślenie. Dodatkowo już na wstępie Doktorant sugeruje jakie badania i kroki podjął aby osiągnąć zamierzone cele. Autor sprawnie przechodzi z opisu ogólnego do szczegółów fizjologicznych i morfologicznych powiązanych z ciałem tłuszczowym, konkludując tę część wskazaniem problemu badawczego. Taka forma przygotowania wprowadzenia czyni pracę przejrzystą i jasno jest zarysowany zamysł Doktoranta na przeprowadzenie doświadczeń.

Podsumowując rozdział ten jest napisany bardzo dobrze, wprowadza niezbędne informacje powiązane z badaniami oraz wskazuje na istotność tematu badań w świetle aktualnej literatury. W kolejnych częściach Doktorant opisuje syntetycznie wyniki i główne obserwacje uzyskane w poszczególnych publikacjach tworzących dysertację.

Zgodnie z deklaracją indywidualny wkład pracy Doktoranta we wszystkie 3 publikacje miał podobny zakres i polegał na opracowaniu założeń badań, zainicjowanie procesu badawczego, opracowanie celu i hipotez badawczych, założeniu doświadczenia, kontroli poszczególnych etapów doświadczenia, pobraniu materiału, wykonaniu analiz laboratoryjnych, mikroskopowej analizie pyłkowej. Ponadto samodzielnie przeprowadził analizy statystyczne i opracował wyniki, sformułował wnioski, napisał pierwszą wersję każdego z manuskryptów oraz prowadził korespondencję z redakcją czasopism.

Publikacja 1: Maciej Sylwester Bryś, Bernard Staniec, Aneta Strachecka. 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: 10.1038/s41598-024-64598-0.

W pracy tej badania przeprowadzone przez mgr Maciej S. Brysia wraz z zespołem wykazały, że różne rodzaje pyłków z roślin kwitnących od wczesnej wiosny do późnej jesieni oddziałują na morfologię komórek ciała tłuszczowego. Ponadto wykazał on, że pyłek pochodzących od różnych gatunków roślin wpływa na stężenie związków ważnych dla metabolizmu energetycznego takich jak glukoza, białko ogólne, triglicerydy czy glikogen w hemolimfie i ciele tłuszczowym pszczoł robotnic. Szczególnie widoczne było to w przypadku roślin kwitnących późnym latem i wczesną jesienią. Robotnice pszczoły miodnej gromadzą w ten sposób duże ilości związków, co przyczynia się do zwiększenia wielkości trofocytów. Jest to istotne z punktu widzenia poznania roli poszczególnych rodzajów pyłków roślinnych, które mogą dominować w diecie pszczoły miodnej. Ważne jest zrozumienie jak wpływają one na parametry fizjologiczne ciała tłuszczowego, które pełni kluczową rolę w wielu procesach biochemicznych i immunologicznych. Badania takie umożliwiają dobranie odpowiednich gatunków roślin, jakie są rekomendowane do mieszanek roślin pełniących rolę źródła pożytku i zaspokajają potrzeby żywieniowe pszczoł.

Publikacja 2: Maciej Sylwester Bryś, Maciej Bartoń, Krzysztof Olszewski, Aneta Strachecka. 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>.

Wyniki z poprzedniej publikacji stanowią solidne podstawy do prowadzenia dalszych badań, których Doktorant podjął się w publikacji 2. Celem tego artykułu jest określenie wpływu pyłków poszczególnych roślin (leszczyna, rzepak, sosna, gryka, facelia i nawłóć) na parametry antyoksydacyjne (SOD, CAT, TAC, GPx) w ciele tłuszczowym wyizolowanym z tergitu 3, tergitu 5, sternitu i w hemolimfie robotnic pszczoły miodnej. Przeprowadzone badania umożliwiły określenie wpływu 10% dodatku pyłku z roślin takich jak rzepak, facelia, gryka i nawłóć do diety na wzrost aktywność SOD, CAT, GST i GPx w ciele tłuszczowym i hemolimfie. Wartości niższe obserwowano w grupach otrzymujących pyłek roślin wiatropylnych czyli leszczyny i sosny. Uzyskane wyniki potwierdzają stwierdzenie, że każdy pyłek ma indywidualne właściwości biologiczne, które przekładają się na funkcjonowanie organizmu pszczoły, w tym jej układ odpornościowy i antyoksydacyjny.

Publikacja 3: Maciej Sylwester Bryś, Krzysztof Olszewski, Aneta Strachecka. The relationship between pollen monodiets and the activities of proteolytic systems in the fat body and hemolymph of honey bees workers, praca jest w trakcie procesu redakcyjnego na etapie *major revision* (*PLOS One*).

Zmiany zachodzące w systemie antyoksydacyjnym naturalnie sygnalizują konieczność zbadania kompatybilnego obszaru aktywności biochemicznej organizmu pszczoły miodnej jakim są proteazy. System proteolityczny tworzą m.in. proteazy wchodzące w skład zespołu procesów odpowiedzialnych za rozkład (hydrolizę) różnych białek na mniejsze peptydy i aminokwasy. Jest to jeden kluczowy proces w organizmie pszczoły miodnej odpowiedzialny za odpowiedź w momencie przełamania bariery przez patogen. System ten bierze również udział w procesach trawienia i w degradacji uszkodzonych lub niepotrzebnych białek. Jest to rozbudowany system, w którego skład wchodzi przede wszystkim proteazy asparaginowe (kwaśnych), cysteinowe (obojętne), serynowe (zasadowe) i metaloproteazy. Ponadto są do nich kompatybilne inhibitory. Cały ten system w warunkach prawidłowego odżywienia organizmu działa prawidłowo. Natomiast nie są znane zmiany w jego funkcjonowaniu gdy pszczoła miodna jest narażona na monodietę. Wyjaśnieniem tego właśnie zagadnienia zajął się Doktorant w ostatniej pracy z cyklu. Wyniki wskazują na związek między dietą a aktywnością systemu proteolitycznego i inhibitorów proteaz. Szczególnie istotna statystycznie zależność widoczna jest w ujęciu pyłku roślin owadopylnych tj. rzepaku, gryki, facelii i nawłoci w porównaniu do diety opartej o pyłki roślin wiatropylnych (leszczyna, sosna) lub samo ciasto cukrowe.

Na podstawie wszystkich 3 publikacji możemy stwierdzić jaki jest wpływ monodiety na ciało tłuszczowe, co zostało trafnie opisane przez Doktoranta. Ponadto o dużej dojrzałości naukowej Doktoranta świadczy fakt, że wskazał on również ograniczenia swoich badań. W pełni zgadzam się z stwierdzeniem użytym w pracy, że obecnie jednym z kluczowych organów aktualnie podlegającym intensywnym badaniom jest ciało tłuszczowe. Ponadto w międzynarodowym dyskursie naukowym obserwujemy zmianę poglądów na funkcję i rolę tego organu. Badania mgr Macieja Sylwestra Brysia wzbogaciły ten dyskurs, wnosząc wkład w lepsze zrozumienie roli ciała tłuszczowego. Warto w tym miejscu zaznaczyć już znaczący wkład Doktoranta w badania nie tylko ciała tłuszczowego ale szeroko rozumianej biologii rodziny pszczelej. Widoczne to jest w imponującym i zasługującym na docenienie dorobku naukowym. W trakcie trwania kształcenia w szkole doktorskiej Doktorant uczestniczył jako Autor główny lub współautor w przygotowywaniu 5 publikacji (3 stanowią podstawę niniejszej dysertacji i 2 dodatkowych) o łącznym współczynniku IF 22,4 i 620 pkn MNiSW. Ponadto uczestniczył w 16 konferencjach naukowych o różnej randze od krajowych po międzynarodowe. Ponadto uczestniczył w realizacji wielu projektów badawczych i usług komercyjnych. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że jest on kierownikiem projektu

finansowanego z Narodowego Centrum Nauki – PRELUDIUM „Związane z procesem starzenia zmiany w systemach zaangażowanych w reakcje odpornościowe pszczoł w kontekście monodiety pyłkowej jako kluczowego stresora środowiskowego”. Miał okazję doskonalić swój warsztat badawczy w różnych instytucjach krajowych i zagranicznych. Wszystko to świadczy o dużej otwartości na nowe wyzwania i chęć nieustannego rozwoju, są to cechy charakteryzujące dobrego naukowca.

Rekomendacje zmian i uzupełnień

Jednym z obowiązków recenzenta jest również zwrócenie uwagi na kwestie wymagające uzupełnienia, poprawienia lub doprecyzowania. Wobec powyższego poniżej znajdują się moje uwagi do pracy:

1. W rozdziale wstęp teoretyczny dobrze było by rozwinąć uzasadnienie doboru gatunków roślin z których pozyskiwano pyłek do opracowywania monodiety.
2. Na stronie 10 Autor pisze „Ponieważ mechanizmy odporności biochemicznej stanowią pierwszą i niezwykle ważną linię układu immunologicznego pszczoły miodnej, postanowiłem skupić się właśnie na nich w mojej dysertacji.„ Należałoby tutaj określić dokładnie, na które mechanizmy odporności biochemicznej kładziony jest szczególny nacisk, ponieważ w tekście jest ich wymienionych kilka, a tylko część z nich jest analizowana w ramach niniejszej dysertacji.
3. Rekomenduję używanie w rozprawie doktorskiej pełnych nazw gatunkowych roślin opisując przynależność ziaren pyłku, aby było jasne stanowisko botaniczne. Jest to kluczowe, ponieważ jak słusznie zauważono we wstępie pracy, pyłek różnych roślin różni się pod względem jakościowym.
4. Na stronie 12 Doktorant zamieścił informację „....postanowiłem zgłębić ten temat u młodych, gniazdowych pszczoł pomiędzy 1 a 14 dniem życia. Jedną z głównych czynności tych robotnic jest karmienie kolejnego pokolenia pszczoł. Jakość mleczka pszczelego wytwarzanego przez karmicielki zależy przede wszystkim od spożywanego przez nie pokarmu, ich witalności i zdrowotności.” W mojej ocenie akapit ten należy przeredagować, ponieważ gruczoły gardzielowe pszczoł robotnic zaczynają aktywować się około 3-6 dnia życia i osiągają maksymalną aktywność w wieku 6-10 dni, a więc pszczoły 1 dniowe są wykluczone z tego zakresu. Ponadto użycie określeń witalność i zdrowotność są słowami nieprecyzyjnymi i myślę, że można było je pominąć.
5. Autor pisze „Facelia (*Phacelia tanacetifolia* Benth) jest rośliną wysiewaną w czerwcu/lipcu przez rolników jako poplon....” Jest również uprawiana w plonie

głównym i optymalnym terminem siewu na nasiona trwa od trzeciej dekady marca do drugiej dekady kwietnia.

6. Praca napisana jest poprawnym językiem, chociaż zdarzają się niefortunne określenia czy skróty myślowe np. w spisie treści jest nieprawidłowa numeracja rozdziałów, na str. 20 pominięto podanie nazwy producenta wykorzystywanego młynka do mielenia pyłku, nie podano również wilgotności jaka panowała w inkubatorze służącym do wygryzania czerwii, na str. 21 nie wyjaśniono czym jest ręczna homogenizacja w temperaturze 4°C.

Pragnę zaznaczyć, że wszystkie zawarte powyżej rekomendacje i uzupełnienia nie mają wpływu na merytoryczną wartość pracy, którą oceniam bardzo wysoko. Należy je traktować jako sugestie, które w przyszłości mogą wesprzeć Doktoranta w przygotowywaniu opisów do publikacji. Podkreślenie wymaga praco- i czasochłonność przeprowadzonych analiz przez Doktoranta.

Podsumowanie recenzji i wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji praca mgr Macieja Sylwestra Brysia stanowi ważny wkład w rozwój nauki i uzupełnia lukę dotyczącą morfologiczno-biochemicznych zmian w ciele tłuszczowym *Apis mellifera* L. pod wpływem różnych diet monopyłkowych. Praca ta posiada szeroki zakres analityczny i badawczy, co wskazuje na rozbudowane umiejętności praktyczne i samodzielność Doktoranta. Wobec czego mogę bez wątpienia stwierdzić, że Doktorant włożył dużo trudu i czasu w przeprowadzenie wszystkich etapów badań. Prowadząc badania i realizując staże w różnych instytucjach badawczych mgr Maciej Sylwester Bryś potwierdził powszechny pogląd, że nauka nie ma granic. Wykonana praca w ramach tych badań wskazuje na dużą dojrzałość naukową. Podjęta tematyka jest bardzo istotna nie tylko ze względu na jej znaczenie poznawcze, ale również praktyczne.

Wiedza naukowa jest narzędziem do odkrywania prawdy i rozumienia otaczającego nas świata, prowadzi ona do postępu w każdym wymiarze naszego życia. Naukowcy zaś stanowią siłę napędową tego procesu, z całym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona praca mgr Macieja Sylwestra Brysia, przyczyni się do lepszego zrozumienia procesów biochemicznych i zmian morfologicznych ciała tłuszczowego pszczoły miodnej. Wobec czego uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania określone w art. 187 ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571) zgłaszam, zatem wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o uznanie rozprawy

Pana mgr Macieja Sylwestra Brysia za odpowiadającą wymogom stawianym rozprawom doktorskim i o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Biorąc pod uwagę aktualność i znaczenie problemu naukowego jakiego rozważenia podjął się Pan mgr Maciej Sylwester Bryś oraz wartość poznawczą w kontekście rozwoju dyscypliny Nauki Biologiczne wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Migdał Paweł', with a long horizontal stroke extending to the right.

Dr hab. inż. Paweł Migdał, prof. uczelni