

Prof. dr hab. Jerzy Demetraki-Paleolog
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Wydział Biologii Środowiskowej
Katedra Ekofizjologii Bezkręgowców i Biologii Eksperymentalnej
ul. Doświadczalna 50a, 20-280 Lublin

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana magistra Łukasza Nicewicza, zwanego dalej „Doktorantem”, pt. „Ocena narażenia na stres środowiskowy spokrewnionych rodzin pszczoł *Apis mellifera* hodowanych w warunkach miejskich i wiejskich” wykonanej w Uniwersytecie Śląskim w Katowicach, Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska pod kierunkiem dr hab. Mirosława Nakoniecznego, prof. UŚ”.

Oświadczam, że nie istnieje żaden konflikt interesów ani naruszenie dobrych praktyk w związku ze sporządzeniem tej recenzji pomiędzy mną a mgr Łukaszem Nicewiczem.

Przedstawiona mi do oceny praca jest wynikiem oryginalnego, częściowo nowatorskiego, eksperymentu naukowego, którego obiektem była pszczoła miodna (*Apis mellifera carnica*). Praca ta jest oryginalną rozprawą naukową, na co wskazuje jej struktura, metodyka i wyniki. Jest ona bardzo obszerna, gdyż liczy 224 strony, w tym 59 tabel i 39 rycin, w których przedstawiono wyniki analizy 3 charakterystyk całej rodziny pszczelej, 9 fizjologicznych charakterystyk osobniczych oraz analizę zawartości 4 metali ciężkich w różnych tkankach pszczół. Wszystkie te cechy są powiązane z reakcją na stres, co pozostaje w zgodności z tytułem rozprawy. Autor zacytował 271 prac naukowych, wszystkie z uznanych i renomowanych periodyków oraz 21 źródeł internetowych.

Ze **WSTĘPU** dowiadujemy się, że Doktorant postanowił przeanalizować wpływ stresu związanego z urbanizacją na indywidualne i rodzinowe bariery odporności/oporności pszczoły *A. mellifera carnica* na stresogenne działanie wysoko zurbanizowanego środowiska miejskiego w porównaniu z nisko zurbanizowanym ekosystemem wiejskim. Wpływ środowiska był rozpatrywany w kontekście jego interakcji z porą sezonu i genotypem, a w przypadku charakterystyk biochemicznych także z rodzajem tkanki. Czyni to układ doświadczenia bardzo obszernym i wieloaspektowym. W związku z coraz większą obecnością pszczół w miastach z jednej strony, a ich wymieraniem z drugiej, taki cel jest uzasadniony, a jego realizacja ma wartości poznawcze i potencjalne zastosowania praktyczne.

W świetle bogatego piśmiennictwa Doktorant wyczerpująco uzasadnił, dlaczego realizacja takiego celu wniesie nowe wartości do już istniejącej wiedzy. Obszernie opisał wpływ pszczół na proces zapyłania i bioróżnorodność w różnych ekosystemach, wskazując na zależność pomiędzy rentownością wybranych upraw a obecnością pszczół będących w dobrej kondycji. Dokładnie

przeanalizował współczesne zagrożenia środowiskowe *A. mellifera*, w tym pestycydy, inwazyjne patogeny i antropogeniczne zubożenie diety. W świetle piśmiennictwa uzasadnił jak wpływają one na witalność i bariery odporności/oporności pszczół miodnych, potwierdzając zasadność i znaczenie swoich badań. Następnie scharakteryzował wiele aspektów utrzymywania pszczół w miastach, wraz ze szczegółową charakterystyką ekosystemów miejskich i ich specyficznego wpływu na kondycję rodzin pszczelich, w kontekście ich wymierania. Innym poruszonym problemem było skażenie produktów pszczelich w pasiekach miejskich i wiejskich oraz wpływ tego zjawiska na obawy i zdrowie potencjalnych konsumentów, a także na przydatność *A. mellifera* jako bioindykatora. Tym samym Doktorant uzasadnił potrzebę zbadania w swojej rozprawie zawartości metali ciężkich w ciałach pszczół ze wsi i z miasta. Wszystkie te rozważania prowadzono w oparciu o bogate i w miarę współczesne piśmiennictwo.

Proszę aby Doktorant uzasadnił dlaczego w swych rozważaniach tak dużo miejsca poświęcił syndromowi CCD (colony collapse disorder), czy jest ono zagrożeniem w Polsce i jak jest powiązane z tzw. depopulacją rodzin pszczelich.

Następnie autor szeroko i w świetle adekwatnego piśmiennictwa uzasadnił dlaczego badał zarówno rodzinowe jak i osobnicze charakterystyki oporności na stres charakteryzując kolejno i bardzo szczegółowo każdą z nich. Wybór właśnie tych charakterystyk uznaję za prawidłowy, a ich zestaw za bardzo bogaty i związany z podstawowymi barierami obronnymi pszczelego superorganizmu i organizmu; odporność, antyoksydacja i detoksykacja. Stwierdzam także, że cele i hipotezy badawcze są sformułowane poprawnie i ukierunkowane na poszerzenie już istniejącej wiedzy poprzez rozwiązanie konkretnego, oryginalnego problemu naukowego.

Tak skonstruowany wstęp, zakres poruszanych zagadnień oraz zawarte w nim piśmiennictwo i rozumowanie, świadczą o bogatej ogólnej wiedzy doktoranta w zakresie biologii środowiskowej i o konsekwencjach postępującej antropopresji, a także o jego gotowości do samodzielnego planowania nowatorskich i oryginalnych eksperymentów naukowych.

- Sfalsyfikowanie hipotezy jest potwierdzeniem jej antytezy i odwrotnie. Dlatego w mojej opinii wystarczyłoby zamieszczenie 4 hipotez zamiast 6. Proszę o podjęcie tej dyskusji.
- W mojej opinii pojęcie „siostrzanych rodzin”, użyte podczas formułowania celu badań, nie niesie o nich konkretniej informacji. Czy i jakim innym pojęciem można by je zastąpić?

Metodyka badań opisana w rozdziale **MATERIAŁ I METODY** jest adekwatna do ich założeń i celu. Lokalizacja pasiek jest właściwa w kontekście hipotez badawczych i dobrze uzasadniona w świetle piśmiennictwa. Obiekt badań jest wybrany poprawnie, a uzasadnienie tego wyboru świadczy o dużej wiedzy Doktoranta o cechach charakteryzujących poszczególne rasy pszczół. Poprawne i przemyślane pobieranie próbek do badań biochemicznych świadczy natomiast o zaawansowanej wiedzy Doktoranta z zakresu doświadczalnictwa i fizjologii pszczół. Częściowo nowatorski układ eksperymentu jest adekwatny do celu, umożliwia weryfikację lub falsyfikację hipotez badawczych oraz gwarantuje uzyskanie oryginalnych wyników. Jego opis jest jednak miejscami mało precyzyjny. Dlatego proszę Doktoranta o wyjaśnienie następujących kwestii:

- Na Rycinie 6 ule na dachu stoją na paletach parami, a w pasiece wiejskiej nie. Dlaczego tak jest? Proszę skomentować to w kontekście błędzenia pszczół (bee drifting) i wiarygodności próbek.
- Co mówi następujące stwierdzenie? *„Każda rodzina pszczela z pasieki miejskiej była powiązana z jedną z rodzin z pasieki referencyjnej, tworząc pary oznaczone tym samym kolorem. W każdej z par znajdowały się matki pszczele – siostry wywodzące się z czystych linii hodowlanych, które były sztucznie unasienniane nasieniem pochodzącym z tej samej puli trutni.”* Czy matki były siostrami czy półsiostrami, co znaczy „z czystych linii hodowlanych” oraz „z tej samej puli trutni”? Inaczej, jakie były różnice i podobieństwa genetyczne pomiędzy rodzinami?
- Czy i jak leczono warrozę – ma to wpływ na ocenę inwazji.
- Czy nie lepiej byłoby dokonać oceny siły rodzin metodami cyfrowymi – fotografia + cyfrowa analiza obrazu.
- O wielkości i strukturze bazy danych czytelnik dowiaduje się dopiero z analizy MANOVA (WYNIKI). Dlatego proszę krótko scharakteryzować wielkość i strukturę bazy danych.

Metodyka oznaczeń biochemicznych jest poprawna, nowoczesna i dobrze udokumentowana piśmiennictwem. Użyto certyfikowanych odczynników uznanych producentów. Opis metod analitycznych jest precyzyjny i wyczerpujący, a badania musiały być bardzo praco- i kosztochłonne. Wszystko to świadczy o dużej wiedzy praktycznej i teoretycznej Doktoranta w zakresie analityki i badań laboratoryjnych oraz o jego dobrym przygotowaniu do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej w tym zakresie.

Proszę o wyjaśnienie jak ważono ciało tłuszczowe - jak Pan napisał „*pobierane ze wszystkich tagm ciała*”. Czy ten sposób pobierania próbek znalazł odzwierciedlenie w wynikach?

Rozdział **WYNIKI** ma formę bardzo szczegółowego raportu. Wyników jest bardzo dużo, ich wizualizacja jest poprawna i umożliwiająca czytelnikowi na powiązanie konkretnego wyniku z hipotezami badawczymi. W tę część pracy Doktorant włożył ogrom pracy, wykazując jednocześnie biegłość w posługiwaniu się oprogramowaniem statystycznym i graficznym, co winno charakteryzować dojrzałego pracownika naukowego. Od strony merytorycznej wyniki mają znaczną wartość i wzbogacają wiedzę o odpowiedzi *A mellifera* na stres w warunkach wysoko zurbanizowanego miejskiego ekosystemu. W kontekście zastosowanego modelu oraz liczby i rodzaju cech wziętych pod uwagę można je uznać za nowatorskie. Badania uwzględniały nie tylko wpływ jednego z dwu ekosystemów, ale także wpływ genotypu, pory sezonu, rodzaju tkanki, zmienność między-rodzinową oraz interakcje tych czynników. Wszystko to potwierdza, że przedstawiona mi do recenzji praca jest oryginalną i nowatorską rozprawą naukową. Sposób prezentacji wyników oraz ich opracowanie statystyczne wskazują, że Doktorant ma wystarczające umiejętności do prowadzenia samodzielnej pracy naukowej. Brakuje jednak ogólniejszych analiz, na przykład z wykorzystaniem średnich brzegowych, co szczególnie dotyczy porównania ekosystemu miejskiego i wiejskiego, albo różnych grup genetycznych. Te porównania Doktorant uznał bowiem za najistotniejsze z punktu widzenia założeń swoich badań.

W rozdziałach **DYSKUSJA** oraz **WNIOSKI** znalazły potwierdzenie wszystkie hipotezy i cele badawcze. Wnioski są sformułowane prawidłowo i wyczerpująco, choć zważywszy na ich teść, bardziej dla tego rozdziału odpowiadałby mi tytuł „Podsumowanie i Wnioski”. Dyskusja dotycząca charakterystyk biochemicznych jest bardzo wnikliwa i rozbudowana, a spostrzeżenia dotyczące bariery antyoksydacyjnej ciała tłuszczowego są nowatorskie. Doktorat uwzględnił w swych rozważaniach genotyp, porę sezonu, rodzaj tkanki i zmienność międzyrodzinową bazując na bogatym i aktualnym piśmiennictwie. W powodzi szczegółów ginie nieco główny cel pracy, czyli porównanie pasieki miejskiej i wiejskiej. Z drugiej strony taka kompleksowa analiza (wyniki tej pracy mogły by dać podstawę do kilku dysertacji doktorskich) ma dużą wartość. Doktorant wyraźnie wykazał jakie nowe treści ważne dla lepszego zrozumienia homeostazy organizmu pszczelego, wynikają z jego badań. Badania te wzbogacają również wiedzę potrzebną dla określenia, które wskaźniki biochemiczne mogą być uznane za biomarkery stresu antropogenicznego u pszczół. Ważne jest też spostrzeżenie, że wielkość i kierunek odpowiedzi na stres środowiskowy u zbieraczek *A. mellifera carnica* są charakterystyczne dla tkanki/narządu. Dla określenia biomarkerów stresu wynikającego z urbanizacji duże wiedzotwórcze znaczenie miało wyodrębnienie trzech grup markerów tego stresu: tych z

dominantą środowiskową, z dominantą genetyczną i zależących od interakcji tych czynników. Bardzo ważnym wnioskiem praktycznym jest stwierdzenie, że „*uzasadnionym jest tworzenie linii pszczoł hodowanych w miastach i dedykowanych dla pasiek miejskich*”. Tym samym Doktorant włącza się do międzynarodowego dyskursu naukowego na temat wad i zalet tworzenia pasiek miejskich oraz nad z rosnącą ich popularnością. Obecnie są nawet zakładane firmy do obsługi takich pasiek. Ważnym było wykazanie, że rodziny w mieście są silniejsze, co zdaniem Doktoranta stwarza lepsze warunki do ich zimowania. Podsumowując dysputę na temat przydatności dla pszczoł *A. mellifera* środowisk miejskich *versus* wiejskich Doktorant stwierdza, że „*nie można jednoznacznie zaklasyfikować warunków miejskich, jako środowiska o silniejszym oddziaływaniu czynników stresowych na zbieraczki A. mellifera carnica, w porównaniu do terenów rolniczych*”. Tym samym przyczynia się do zmiany paradygmatu, że wieś jest dla pszczoł środowiskiem lepszym.

Mówi się, że rozdziały **DYSKUSJA** oraz **WNIOSKI** są sercem oryginalnej rozprawy naukowej. W nich bowiem autor konfrontuje swoje hipotezy i wyniki z istniejącą wiedzą, wskazuje na ich nowatorstwo i stawia pytania na przyszłość. I właśnie jakość tych rozdziałów potwierdza, że Doktorant posiada ogólną wiedzę teoretyczną i umiejętności praktyczne pozwalające mu na samodzielne prowadzenie pracy naukowej, w tym interpretowanie wyników, a jego dysertacja, jako oryginalne opracowanie naukowe, wnosi nowe treści do już istniejącej wiedzy w zakresie nauk biologicznych.

Chciałbym jedynie jeszcze raz powrócić do leczenia i oceniania stopnia inwazji *Varoa destructor*.

Informacja ze strony 151 że „*wszystkie rodziny w niniejszym badaniu były leczone w ten sam sposób*” nie wnosi żadnej informacji, a metoda z zastosowaniem cukru pudru jest praktyczna, ale pełna analiza uwzględnia także pasożyty w czerwiu i w osypie na dennicy.

- Proszę w tym kontekście zinterpretować brak pasożytów w rodzinach obu środowisk we wrześniu.

W kontekście wymagań stawianych pracom doktorskim, chciałbym zwrócić szczególną uwagę na Rozdział 5.3 „Układ eksperymentalny – podsumowanie”. W tym bardzo cennym podsumowaniu Doktorant w świetle własnych wyników analizuje zalecaną w piśmiennictwie metodykę badań włączając się w międzynarodowy dyskurs naukowy na temat jakie modele i układy doświadczeń z zakresu ekologii i toksykologii *A. mellifera* winny być stosowane. Ponadto, na tej podstawie wysuwa rekomendacje dla przyszłych badań oraz prowadzenia ich dokumentacji. Treści i sposób rozumowania w tym rozdziale przekonująco dowodzą, że Doktorant nie tylko posiada wiedzę i umiejętności pozwalające mu na samodzielne prowadzenia pracy naukowej, a w szczególności

doświadczeń terenowych w dyscyplinie Biologia, ale jest gotów do formułowania rekomendacji i zaleceń metodycznych wnoszących nowe treści do wiedzy na tym polu.

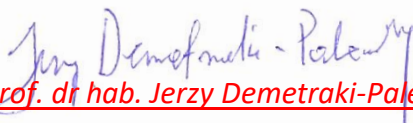
Doktorant nie ustrzegł się przed uchybieniami stylistycznymi i formalnymi, w tym przed błędami drukarskimi i prostymi pomyłkami. Nie wpłynęły one jednak na charakter i konkluzje mojej oceny. Ich wyliczanie, zważywszy na długość opracowania (224 str.), byłaby jednak nużące. Z punktu widzenia warsztatu naukowego warto jednak wskazać na nadużywanie fraz ponadwymiarowych (redundant sentences) oraz zbyt skomplikowanego stylu, który utrudnia odbiór przekazu. Zamieszanie wprowadza wymienne używanie takich terminów jak: „rodzin spreparowanych”, „rodzin siostrzanych”, „siostrzanych rodzin sparowanych” i „rodzin niespokrewnionych”. Doktorant używa także takich sformułowań jak: „aktywności GST w tkankach jelita zbieraczek pochodzących z testowanych pasiek”, „w tkankach przewodu pokarmowego zbieraczek pochodzących z obydwu analizowanych pasiek”, „hipotezę tą mogą potwierdzać uzyskane wyniki”. Nie pytam, co można ustalić na podstawie „nietestowanych lub nieanalizowanych pasiek”, albo „nieuzyskanych wyników”. Są to typowe ponadwymiarowe frazy. Dla przykładu skomplikowane zdanie „Hipotezę tą mogą potwierdzać uzyskane wyniki, które wskazują, że mięśnie tułowia cechowały się najmniejszymi wahaniami w aktywności GST w sezonie”, można zastąpić zdaniem „Najmniejsze sezonowe wahania aktywności GST w mięśniach tułowia potwierdzają tę hipotezę”. Nie warto też nieustannie pisać „różnice istotne statystycznie”, gdyż różnice nieistotne nie istnieją i w takim przypadku możemy mówić jedynie o tendencjach. Dlatego warto pisać wprost co było większe, a co mniejsze. Na przykład zamiast niejasnego zdania „sparowane rodziny charakteryzowały się licznymi różnicami istotnymi statystycznie” można napisać „różnice pomiędzy sparowanymi rodzinami były liczne”. Myślę, że takie uproszczenie stylu i terminologii będzie szczególnie użyteczne podczas pisania publikacji anglojęzycznych.

Wniosek końcowy

Wszystkie treści zawarte w mojej opinii pozwalają na stwierdzenie, że strona merytoryczna pracy doktorskiej Pana mgr. Łukasza Nicewicza nie budzi zastrzeżeń, temat i obiekt wybrane są prawidłowo oraz współgrają z dobrze uzasadnianymi hipotezami i celami. Logika i chronologia rozumowania są poprawne. Metody są adekwatne do celu i profesjonalne. Wyniki wnoszą nowe treści do już istniejącej wiedzy, a bogata dyskusja prowadzi do wartościowych wniosków i zaleceń metodycznych, a także formułuje wnioski praktyczne dla otoczenia społeczno-gospodarczego. Dobór i wykorzystanie piśmiennictwa źródeł są poprawne i wyczerpujące, a formalna strona (poprawność języka i technika

pisania pracy, odsyłacze, rozdziały, akapity, itp.) jest właściwa dla oryginalnej rozprawy naukowej. Dlatego rozprawa doktorska Pana magistra Łukasza Nicewicza jest bez wątpienia pracą pisemną o charakterze oryginalnej rozprawy naukowej, a sam mgr. Łukasz Nicewicz posiada ogólną wiedzę teoretyczną oraz umiejętności i warsztat badawczy, w tym analityczny, pozwalające mu na samodzielne prowadzenia pracy naukowej. Przedłożona mi do oceny dysertacja stanowi oryginalne, eksperymentalne rozwiązanie problemu naukowego, które ma znaczenie wiedzotwórcze oraz implikacje praktyczne. Ww. rozprawa jest opatrzona poprawnymi i adekwatnymi do treści streszczeniami w języku polskim i angielskim świadczącymi o umiejętności syntetycznego informowania społeczności naukowej o swoich, najważniejszych wynikach. Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska Pana mgr. Łukasza Nicewicza spełnia wszystkie wymagania określone w USTAWIE z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, Dz.U. 2003 Nr 65 poz. 595., W ARTYKULE 179, ust 2, ustawy z dn. 3 lipca 2018 - Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Dz.U. 2018 poz. 1669 oraz w USTAWIE z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce Dz. U. 2018 poz. 1668 i poza innymi warunkami, stanowi podstawę do nadania mu stopnia doktora Nauk Biologicznych; Nauki Ścisłe i Przyrodnicze.

W świetle ww. aktów prawnych, moja recenzja jest pozytywna i tym samym wnioskuję o dopuszczenie Pana mgr. Łukasza Nicewicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Prof. dr hab. Jerzy Demetraki-Paleolog