Lublin, dn. 28.01.2019r.

Dr hab. Aneta Strachecka
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki
Zakład Biologii Środowiskowej i Apidologii
ul. Akademicka 13
20-950 Lublin

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Pawła Migdała pt. „**Ocena zmian fizjologicznych oraz behawioralnych u pszczoły miodnej pod wpływem pola elektromagnetycznego o częstotliwości 50 Hz i zmiennym natężeniu**”

przygotowanej pod kierunkiem Promotora – dr hab. Adama Romana, prof. nadzw. i Promotora pomocniczego dr Ewy Popieli-Pleban.

Podstawą wydania opinii jest pismo dr hab. Adama Romana, prof. nadzw. – Dziekana Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 04 stycznia 2019r. (BDDD0000.4100.1.2019).

Mgr Paweł Migdał przedstawił do oceny pracę doktorską w postaci monografii. Z dużą aprobatą odnieść się należy do wyboru tematu rozprawy doktorskiej, który wpisuje się w najnowsze trendy pszczelnictwa.

Całość przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej liczy 120 stron. Autor podzielił pracę na 10 rozdziałów: na wstęp przypada 15 stron, na przegląd literatury – 23 strony, cel pracy – 1 strona, materiały i metody – 10 stron, wyniki i dyskusja – 16 stron, podsumowanie – 1 strona, wnioski – 1 strona, literatura – 21 stron, tabele i wykresy – 20 stron, fotografie – 2 strony. Przed wstępem Autor zamieścił streszczenie w języku polskim i angielskim (po 2 strony). Uważam, że taki podział jest właściwy, choć nieproporcjonalny. W pracy wykorzystano 255 pozycji literatury. Na podkreślenie zasługuje fakt, że 192 publikacje to pozycje opublikowane po 2000 roku. Praca zawiera 13 tabel, 4 ryciny, 1 schemat, 24 wykresy i 3 fotografie.

Informacje przytoczone we Wstępie i Przeglądzie literatury świadczą o wnikliwej znajomości problematyki badawczej i o dobrym przygotowaniu Autora do podjęcia niniejszych badań, również pod względem analitycznym. Doktorant w rozdziale Wstęp przedstawił znaczenie gospodarcze pszczół oraz wybrane zachowania rodziny pszczelej, jak i pojedynczych osobników. Ponadto, scharakteryzował wybrane elementy budowy anatomicznej i fizjologicznej; skupił się przede wszystkim na pancerzu chitynowym, narządach ruchu, układzie pokarmowym i krążenia. W podrozdziale opisującym układ krążenia zawarł informacje na temat mechanizmów odporności, ze szczególnym

uwzględnieniem odpowiedzi humoralnej (w tym systemów: proteolitycznego i antyoksydacyjnego) na poziomie indywidualnym i odporności społecznej na poziomie rodziny. W tym rozdziale, Autor opisał bardzo wnikliwie pole elektromagnetyczne – co to jest, jakie są jego źródła, jak oddziałuje z materią itp. W Przeglądzie literatury, Autor scharakteryzował wskaźniki biochemiczne. Szczegółowo opisał system proteolityczny: proteazy i ich inhibitory; oraz system antyoksydacyjny w tym dysmutazy ponadtlenkowe, katalazę i FRAP (zdolność redukowania jonów żelaza). W kolejnym podrozdziale przedstawił tkanki uczestniczące w odporności pszczół, w tym ciało tłuszczowe, hemolimfę i kutikulę oraz podał powiązania pomiędzy nimi. Następnie Doktorant opisał szczegółowo zachowania pszczół i wpływ środowiska na nie oraz wpływ pola elektromagnetycznego na organizmy żywe, ich tkanki i pojedyncze komórki. Moim zdaniem Wstęp, który zazwyczaj powinien wprowadzać czytelnika w temat pracy, jest zbyt długi i szczegółowy. Nosi on znamiona Przeglądu literatury i większa jego część powinna być przeniesiona właśnie do tego rozdziału. Rozdziały powinny mieć zmienioną kolejność i powinny zawierać informacje „od ogółu do szczegółu". Jest to uzasadnione, ponieważ informacje o polu elektromagnetycznym, hemolimfie, odporności i behawiorze pszczół pojawiają się w obydwu rozdziałach i są w nich szczegółowo przedstawiane, a niektóre treści wręcz się powtarzają. Nie umniejsza to jednak wartości poznawczej dysertacji, wnikliwej znajomości problematyki i tematów „na czasie" oraz o dobrym przygotowaniu metodycznym/analitycznym.

Cel pracy jest sformułowany prawidłowo i precyzyjnie. Zachęcam Autora, aby przygotowując pracę do druku w czasopismach z listy JCR, pokusił się także o postawienie hipotez badawczych. Uważam, iż podniesie to wartość publikacji i wpisze się w najnowsze standardy „przygotowywania prac naukowych".

Z rozdziału Materiał i metody wynika, że Autor prowadził doświadczenia na przełomie czerwca i lipca 2017 roku. Wcześniej dokonał wyboru rodzin, z których pochodziły pszczoły, przeprowadził zabiegi lecznicze oraz wyrównał siłę kolonii. Należy podkreślić, iż etap ten jest niezwykle pracochłonny i żmudny, i niestety często zależny od warunków środowiskowych. Doktorant musiał wykazać się dużą cierpliwością, a przede wszystkim wiedzą na temat funkcjonowania rodziny pszczelej, jej biologii i behawioru. Ponadto, Doktorant dobrze opanował techniki przygotowywania rodziny, aby uzyskać czerw, a z niego robotnice w jednym wieku. Wartym pochwalenia jest też sposób przygotowania pszczół jednowiekowych do laboratoryjnej części doświadczenia, w której wykorzystano własnoręcznie przygotowany emiter pola elektromagnetycznego podłączony do generatora natężenia. Taka koncepcja i układ doświadczenia, wskazują na szersze zainteresowania Doktoranta, niż tylko te związane z naukami przyrodniczymi. Na szczególne podkreślenie zasługuje warsztat analityczno-laboratoryjny Doktoranta. Po pierwsze, Autor udoskonalił metodę pobierania hemolimfy od pszczół. W literaturze, opisanych jest obecnie trzy metody (Łoś i Strachecka, 2018, Sensors). Najczęściej, hemolimfę pobiera się do kapilar „end to end" z zatoki żylnej pomiędzy trzecim a czwartym segmentem odwłoka lub zasysa się pipetą z czułka. Doktorant wykazał się niezwykłą umiejętnością i precyzją pobierając hemolimfę z czułka do kapilary. Uważam, iż modyfikacja metody Borsuka i wsp. z 2017 roku (PLoS One) powinna być jak najszybciej opublikowana przez Autora niniejszej dysertacji w czasopiśmie z listy JCR. Po drugie, należy zwrócić szczególną uwagę na żmudny i niezwykle pracochłonny moment pobierania materiału – nie jest proste pobranie w bardzo

krótkim czasie hemolimfy od 10 osobników z każdej klatki. Ponadto, metody biochemiczne zastosowane w badaniach zostały przemyślane i właściwie dobrane. Liczba przeprowadzonych analiz świadczy o wielkim wyzwaniu jakiego podjął się Doktorant. Wymagało to od Niego ogromnego nakładu pracy i determinacji oraz takich cech jak dokładność, sumienność i staranność podczas wykonywanych prac. Rezultatem tych wszystkich analiz są wyniki przedstawione w tabelach i na rycinach. Sposób przedstawienia Materiałów i metod w niniejszej dysertacji można przytaczać jako dobry przykład i wzór opisywania metodyk o podobnej tematyce.

Rozdział Wyniki i ich dyskusja szczegółowo przedstawia wyniki badań, które Doktorant umiejętnie dyskutuje ze współczesną literaturą. Rozdział ten, Autor podzielił na dwa podrozdziały; w jednym omówiony został wpływ pola elektromagnetycznego o różnym natężeniu i czasie ekspozycji na parametry biochemiczne/fizjologiczne w hemolimfie robotnic, a w drugim – na wybrane parametry behawioralne. Na szczególne podkreślenie zasługuje liczba pozycji literatury wykorzystanej w dyskusji. Moim zdaniem, rozdział Wyniki i ich dyskusja powinien być rozdzielony na dwa rozdziały: 1) Wyniki; 2) Dyskusja. Ponadto, tabele i wykresy, które są umieszczone na końcu dysertacji, powinny być usytuowane w rozdziale Wyniki. Przy takiej mnogości obserwacji (6 parametrów behawioralnych i 6 parametrów biochemicznych) i układzie doświadczenia przedstawienie tych rozdziałów w sposób proponowany przez recenzenta ułatwiłby interpretację wyników oraz logistykę pracy. Sugeruję, aby na wykresach zastosować: 1) różne barwy, np. w zależności od grupy (K- czerwony, 21.8V – zielony, itd.) – ułatwiłoby to odczytywanie wykresów i porównywanie danych; 2) podać istotności. Zdaję sobie sprawę, iż istotności są podane w tabelkach, ale porównywanie wyników pomiędzy tabelą, wykresem i opisem nastręcza problemów i utrudnia ich analizę. Pomimo, przedstawionych przeze mnie sugestii, uważam, że Pan mgr Paweł Migdał wykazał się umiejętnością poprawnego konfrontowania literatury z uzyskanymi wynikami. Daje to jeszcze jeden powód na to, że Autor jest dojrzałym i wnikliwym pracownikiem naukowym.

Na podstawie badań wyciągnięto 6 wniosków, z których moim zdaniem szczególne znaczenie ma wniosek nr 5: „Oddziaływanie pola elektromagnetycznego na robotnice pszczoły miodnej pozwala na wpisanie tego czynnika jako zagrażającego pszczole miodnej w naturalnym środowisku". Należy podkreślić, że wniosek ten nabiera szczególnego znaczenia w dobie nasilenia wielu różnych czynników chorobotwórczych/antropogenicznych w rodzinach pszczelich, które powodują zmniejszanie populacji pszczół na całym świecie. Z wyników niniejszej dysertacji wynika, że zagrożeniem dla pszczół jest nie tylko chemizacja rolnictwa, która poprzez rosnące skażenia gleby i powietrza zwiększa presję substancji toksycznych, nie tylko obniżenie pszczelej odporności, jakościowe ubożenie diety pszczół przez ograniczenie szaty roślinnej wskutek wzrostu areałów monokultur oraz spadku kwiecistości terenów zielonych i przydomowych, nie tylko współczesne metody gospodarki pasiecznej, np. gospodarka wędrowna, powszechnie stosowane leki przeciw warrozie, patogeny; ale również fale elektromagnetyczne.

W literaturze polskiej brakuje opracowania na temat wpływu pola elektromagnetycznego na pszczoły. Dlatego zachęcam Doktoranta, aby po drobnym przeredagowaniu, uściśleniu i uzupełnieniu niektórych podrozdziałów, opublikował Wstęp

i Przegląd literatury swojej dysertacji, właśnie w ojczystym języku. Zdaję sobie sprawę, iż takie publikacje są nisko-punktowe, ale należy pamiętać, iż przywilejem i jednocześnie obowiązkiem naukowca jest popularyzacja wiedzy. Będzie to nie tylko dobra lektura dla naukowców zajmujących się tą tematyką, ale również dla pszczelarzy-praktyków. Mając na uwadze, iż dysertacja będzie przygotowywana do druku w języku polskim i angielskim, proponuję uwzględnić i ustosunkować się do poniższych uwag i wskazówek:

- w pracy pojawiają się nietrafne sformułowania, literówki, błędy w interpunkcji i stylistyce, które naniesiono bezpośrednio w egzemplarzu pracy. Poprawiony egzemplarz przekazałam Doktorantowi.
- W tabeli 13 brakuje jednostek przy parametrach biochemicznych.
- Na wykresach brakuje podpisu osi y i niektóre podpisy są w języku angielskim.
- W podrozdziale pt. „Znaczenie gospodarcze" pszczoły miodnej, drugi akapit charakteryzuje przyczyny ginięcia pszczół i powinien być przeniesiony do podrozdziału o odporności tych owadów, np. na str. 20, jako uzupełnienie informacji o wpływie czynników antropogenicznych na te owady.
- Skrót PEM powinien być wyjaśniony w pierwszym akapicie, gdy pojawia się po raz pierwszy, a nie w kolejnych zdaniach w podrozdziale „Pole elektromagnetyczne". Powinien on być również wyjaśniony w Streszczeniu.
- W podrozdziale „Elementy podstawowej budowy anatomicznej i fizjologicznej" Doktorant pisze: „Gdy patogen przełamie bariery fizjologiczne i anatomiczne, w organizmie owada aktywowana jest odpowiedź humoralna, do której zaliczają się systemy antyoksydacyjny i proteolityczny". Proszę aby Autor wyjaśnił: 1) jakie inne elementy zaliczane są do odporności humoralnej i jak one funkcjonują w organizmie pszczoły? 2) w jakich okolicznościach uruchamiana jest odpowiedź komórkowa?
- Doktorant wspomniał na str. 26, że wyniki badań biochemicznych dają obraz funkcjonowania narządów, układów oraz gruczołów. Proszę, aby w tym kontekście, jak również na poziomie odporności pszczół, Doktorant wyjaśnił: 1) w jaki sposób system antyoksydacyjny i proteolityczny są ze sobą powiązane? 2) jak są one wspomagane przez markery biochemiczne, np. aminotrasferazy asparaginowe itp.? 3) jakie czynniki i w jaki sposób mogą zaburzyć działanie tych związków w organizmie pszczoły?
- Proszę o wyjaśnienie, w jaki sposób fenolooksydaza powiązana jest z systemem proteolitycznym i innymi mechanizmami tj. np. melanizacja i tworzenie guzków melanotycznych? Ponieważ w podrozdziale „Wskaźniki biochemiczne" informacje te są „dość szczątkowe".

Wyżej wymienione uwagi i sugestie nie umniejszają wartości merytorycznej niniejszej dysertacji oraz bardzo wysokiej oceny, jaką z pełną odpowiedzialnością stawiam pracy doktorskiej Pana mgr Pawła Migdała.

W świetle wszystkich powyższych argumentów stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji dysertacja doktorska Pana mgr Pawła Migdała spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określonym w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003r. (Dz. U. z 2003r nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady

Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr Pawła Migdała do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Praca charakteryzuje się dużą wartością poznawczą, nowatorskim charakterem i szerokim zakresem badań. Świadczy to o dużej samodzielności naukowej i badawczej Doktoranta, swobodzie poruszania się w zagadnieniach behawioralnych, biochemicznych i analitycznych, a także o jego pracowitości i rzetelności badawczej.

Biorąc pod uwagę powyższe przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt wniosek o wyróżnienie niniejszej dysertacji doktorskiej stosowną nagrodą.

Aneta Strachecka