

dr hab. Monika Fliszkiewicz

Poznań, dnia 06.09.2022 r.

Katedra Zoologii, Pracownia Pszczelnictwa

Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Marty Murawskiej pt. „Zmiana poziomu wskaźników biochemicznych oraz kondycji rodziny pszczelej (*Apis mellifera* L.) narażonej na środki ochrony roślin i ich mieszaniny”

przygotowanej pod kierunkiem:

Promotor: Pan prof. dr hab. Adam Roman,

Promotor pomocniczy: Pan dr inż. Paweł Migdał

w Katedrze Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt

Pracowni Pszczelnictwa

na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt

Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

Podstawą wydania opinii jest pismo dr hab. inż. Heliodora Wierzbickiego, prof. uczelni Przewodniczącego Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 5-go lipca 2022 r. (BDDD0000.RDZiR.4100.51.2022) oraz dokumentacja w postaci papierowej wersji pracy nadesłane w dniu 18-tego lipca 2022 r.

1. Ocena wyboru i znaczenie podjętej tematyki badawczej.

Intensywny wzrost liczby ludności na świecie stawia obecnie przed rolnictwem ogromne wyzwanie znacznego wzrostu produkcji żywności. Opracowuje się w wielu krajach nowe, odporne na choroby i znacznie wydajniejsze odmiany roślin. Zwiększa to co prawda produktywność, jednak nie w wystarczającym zakresie, dlatego też współczesne rolnictwo nie może funkcjonować i rozwijać się bez stosowania syntetycznych pestycydów, środków ochrony roślin i nawozów sztucznych. Jednak wykorzystywanie ich na szeroką skalę nie pozostaje bez wpływu na środowisko. Jednym z bardzo ważnych elementów tego środowiska, wpływającym zarazem na wzrost plonowania roślin są owady zapylające. Pszczoła miodna *Apis mellifera* L. ze względu na to, iż jest hodowana na całym świecie i tworzy bardzo liczne społeczności jest jednym z najważniejszych zapylaczy. Niestety obecnie liczba rodzin

pszczelich w wielu krajach drastycznie spada, co spowodowane jest zarówno chorobami (np. Warrozą, CCD, chorobami wirusowymi, bakteryjnymi i innymi), zmianami klimatycznymi (np. wzrost temperatury, który wpływa na zmianę fenologii roślin), jak i w dużej mierze zagrożeniami pochodzenia antropogenicznego. Są wśród nich pestycydy, zanieczyszczenie środowiska toksynami będącymi wynikiem postępującej industrializacji oraz środki ochrony roślin, które ciągle stanowią znaczący czynnik śmiertelności wśród rodzin pszczelich. Badania wpływu środków chemicznych stosowanych w rolnictwie na przeżywalność i kondycję zapylaczy stanowi znaczący udział w pracach związanych z dzisiejszym rolnictwem. Stwierdzam zatem, iż podjęta przez Doktorantkę tematyka pracy, związana z wpływem wybranych środków ochrony roślin i ich mieszanin na zmianę wskaźników biochemicznych oraz kondycję rodziny pszczoły, wpisuje się w sposób istotny w aktualny nurt badań w tym zakresie i stanowi nowy i ważny pod względem poznawczym aspekt. Zakres pracy oraz treść w pełni odpowiadają tytułowi.

2. Ocena formalnej strony pracy.

Praca doktorska przygotowana została w formie monografii i obejmuje 97 stron wydruku komputerowego. Autorka podzieliła pracę na 10 rozdziałów: **Wstęp**, który stanowi przegląd piśmiennictwa i obejmuje 24 strony (str. 9-32), **Cel pracy i hipotezy badawcze**, których autorka wysunęła 3, znajdują się na jednej stronie (str. 33), **Materiały i metody** zajmują 13 stron (str. 34-46), wzbogacone zostały dwoma rycinami, dwoma fotografiami oraz trzema tabelami, rozdział **Wyniki** liczy 18 stron (str. 47-64) i oprócz tekstu zawiera siedem tabel oraz dziesięć wykresów. **Dyskusja** obejmuje 7 stron (str. 65-75) i podzielona została na dwa podrozdziały odpowiednio do uzyskanych i omawianych w poprzednim rozdziale wyników. **Podsumowanie** obejmuje 2 strony (str. 72-74), a **Wnioski** zamieszczono na jednej stronie (str. 74). **Spis piśmiennictwa** obejmujący aż 186 pozycji, zawarto na 20 stronach (str. 75-94). Na kolejnej, jednej stronie (str. 95) zamieszczono **Spis aktów prawnych** oraz na ostatnich dwóch (str. 96- 97) **Załączniki** zawierające przykładową Kartę ulową, w której odnotowywano przy kolejnych przeglądach obecność lub brak: jaj, matki, czerwiu zwartego, liczbę ramek obsiadanych „na czarno” oraz ewentualne zabiegi hodowlane oraz Kartę do oceny powierzchni, w której odnotowywano oceniany wzrokowo udział procentowy powierzchni czerwiu krytego, pierzgi i zapasu węglowodanowego. Ponad to zgodnie z wymogami, praca zawiera w początkowej części streszczenie w języku polskim i angielskim, spis treści oraz alfabetyczny wykaz skrótów stosowanych w pracy. Układ taki jest klasycznym i poprawnym układem w pracach doświadczalnych i nie budzi zastrzeżeń. Pozwala natomiast na łatwe i szybkie przeanalizowanie całej pracy.

3. Ocena merytoryczna pracy.

We „Wstępie” podzielonym na 10 podrozdziałów autorka wyjaśnia pojęcie środków ochrony roślin oraz pokrótce historię ich stosowania. Zwraca uwagę, iż badania oceny wpływu herbicydów i fungicydów na pszczoły miodne są rzadziej wykonywane, co niewątpliwie podnosi wagę badań autorki. Przedstawia znaczenie pszczół miodnych oraz indywidualne i społeczne mechanizmy obronne ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów

antyoksydacyjnych i detoksykacyjnych, odpowiedzialnych za odporność owadów. Udowadnia także słuszność wyboru w swojej pracy określonych parametrów dla oceny kondycji rodziny pszczelej. W dalszej części tego rozdziału autorka skupia się na charakterystyce i klasyfikacji środków ochrony roślin oraz ich znaczeniu i powszechnym użyciu w obecnie prowadzonym intensywnym rolnictwie. Omawia zagrożenia jakie stanowią środki ochrony roślin w stosunku do rodzin pszczelich oraz akty prawne obowiązujące w całej Unii Europejskiej (a więc także i w Polsce), regulujące dopuszczenie, sposób stosowania oraz ocenę tych środków. Zwraca także uwagę na wagę badań toksyczności środków ochrony roślin w odniesieniu do pszczoły miodnej oraz podział metod badawczych z tym związanych. W ostatnim podrozdziale wstępu autorka opisała na podstawie literatury aktualny stan wiedzy na temat substancji aktywnych (tj. Acetamiprydu, Glifosatu i Tebukonazolu), wykorzystanych w badaniach własnych, z podziałem na ich charakterystykę oraz wpływem na pszczołę miodną. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż w rozdziale tym Autorka zacytowała aż 159 prac z których tylko 10 było opublikowanych przed 2000 rokiem. Podsumowując stwierdzam, że ogrom informacji zawartych we „Wstępie” dysertacji świadczy o bardzo dobrej znajomości tematyki badawczej podjętej przez Doktorantkę, a umiejętność syntetycznego przedstawienia posiadanej wiedzy, o właściwym przygotowaniu do podjęcia niniejszych badań.

W rozdziale 2 Autorka wyraźnie wytycza cel swoich badań oraz stawia trzy hipotezy badawcze. Cel pracy został określony bardzo precyzyjnie, hipotezy badawcze, a właściwie postawione pytania, tworzą logiczną całość, a odpowiedź na nie pozwoliła w pełni na realizację założonych celów badawczych.

Rozdział „Materiały i metody” podzielony został na 7 podrozdziałów, z których pierwszy dotyczył wykorzystanych rodzin pszczelich, drugi roztworów doświadczalnych i ekspozycji rodzin na środki ochrony roślin, trzeci sposobu pobrania oraz analizę hemolimfy, czwarty oceny rodzin pszczelich, a dokładniej oceny ich kondycji oraz w kolejnych przedstawiono analizę pozostałości badanych substancji aktywnych w próbach, warunki atmosferyczne panujące w trakcie przeprowadzonych badań i zastosowane analizy statystyczne. Wybór tych ostatnich został dokonany prawidłowo i nie budzi zastrzeżeń.

Rozdział „Wyniki” podzielony został na dwa podrozdziały z których pierwszy przedstawia wyniki wpływu badanych substancji aktywnych obecnych w formułacjach środków ochrony roślin na kondycje rodzin pszczelich, a drugi na aktywność bądź poziom przeanalizowanych wskaźników biochemicznych. Dla lepszego przeanalizowania uzyskanych wyników przedstawiono je także w formie siedmiu tabel oraz dziewięciu wykresów.

„Dyskusja” podzielona została także na dwa podrozdziały w sposób logiczny, odpowiednio do kolejno omawianych wyników. Odniesienie wyników własnych do wyników uzyskanych przez innych autorów dokonane zostało w sposób właściwy, z wyraźnym naciskiem na różnice wynikające ze sposobu przeprowadzania doświadczeń określających wpływ środków ochrony roślin zarówno na całe rodziny, jak i na poziom wskaźników biochemicznych pszczół. Doktorantka trafnie wybrała pozycje literaturowe do przeprowadzenia dyskusji.

W „Podsumowaniu” Autorka słusznie podkreśla, że wskazane jest badanie nie tylko pojedynczych środków ochrony roślin, ale także ich mieszanin, gdyż jak wykazały Jej badania cyt. „Środki ochrony roślin po połączeniu wykazywały odmienne działanie” oraz „Substancje aktywne w zależności od połączenia wpłynęły odmienne na poziom analizowanych

wskaźników”. Słusznym jest także zwrócenie uwagi, na konieczność rozszerzenia badań nad negatywnym wpływem fungicydów na pszczoły miodne, gdyż wbrew uznawaniu ich za nietoksyczne względem tego zapylacza, Doktorantka wykazała wpływ tebukonazolu, będącego fungicydem, na zmiany aktywności lub poziom wskaźników biochemicznych badanych pszczoł.

W ostatniej części merytorycznej pracy Autorka przedstawiła 6 właściwie sformułowanych wniosków, z których dwa pierwsze uważam za najważniejsze.

Na podkreślenie zasługuje bardzo bogate piśmiennictwo obejmujące 186 prac, z czego większość (ponad 90%) stanowią prace z ostatnich 22 lat, a więc z XXI wieku oraz 4 akty prawne. Zapis kolejnych pozycji literaturowych jest spójny i powtarzalny, a podawane numery „doi”, pozwalają na łatwe odnalezienie konkretnej pracy. Cytacji tylko 2 pozycji [63 i 65] ujętych w „Spisie piśmiennictwa” nie odnalazłam w treści pracy, co świadczy o ogromnej skrupulatności Doktorantki w tym zakresie. Natomiast nieco gorzej przedstawia się „Spis aktów prawnych”, w których Autorka ograniczyła się do Rozporządzeń Parlamentu Europejskiego i Rady oraz Rozporządzeń Komisji UE, pomijając Dyrektywy oraz polskie akty prawne, na które także powołuje się w pracy.

4. Uwagi krytyczne

– Praca napisana jest poprawnym językiem z dużą starannością edytorską, jedyne dostrzeżone błędy, to: niepotrzebne słowo „oraz” na stronie 55 wers 4 w zdaniu: cyt. „Wartości średnie wraz z odchyleniem standardowym oraz przedstawiono w tab.12”, powtórzone słowo „głowa” na str. 66 , wers 29, brak zamknięcia nawiasu na str. 68, wers 23 i str. 69, wers 19 oraz błąd gramatyczny na str. 73, wers 6 jest cyt: „... , że tebukonazol wpłynął na zmiany aktywności lub poziomie wskaźników biochemicznych...”, a powinno być...wpłynął na zmiany aktywności lub poziom wskaźników biochemicznych. Błąd ten można jednak uznać za zwykły błąd literowy.

– W rozdziale 1.2.4. „Sytuacja prawna w kontekście bezpieczeństwa dla pszczoły miodnej”(str. 19-21), w moim odczuciu Autorka zbyt wiele razy podaje pełne dane dotyczące Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) Nr 1107/2009, co nieco utrudnia wyłowienie najważniejszych informacji zawartych w tym rozdziale. Sugerowałabym podjęcie próby przeredagowania nieco tego rozdziału.

– Uwagi do rozdziału Materiały i metody:

1. Co oznacza, że wykorzystano w badaniach rodziny jednolite genetycznie?
2. Proszę wyjaśnić jaki był cel karmienia rodzin doświadczalnych ciastem pszczelim Apikand? Nie wyjaśniono tego w pracy. Jak również jaki był powód sprawdzenia pozostałości substancji aktywnych w tym cieście?
3. Jak rozumieć określenie „Badania właściwe”? Jeśli ma to określać czas oceny oddziaływania badanych środków ochrony roślin na rodziny pszczoły, oraz termin pobierania materiału do analiz, to został podany w moim przekonaniu nieprecyzyjnie.
4. Na schemacie 1 (str. 23) przedstawiającym ustawienie uli w doświadczeniu, oznaczenia literowe nie są zgodne z oznaczeniami podanymi w tekście.

5. W rozdziale 3.3.1. „Pobranie hemolimfy” (str. 38) nie jest dokładnie określone czy około 300 sztuk świeżo wygryzionych robotnic pobierane było tylko z suszoramki, która poddana była do rodzin na dwa dni przed ekspozycją środków ochrony roślin, czy także z innych ramek? Jak również nie jest określone ile było probówek typu Eppendorf w której umieszczono po 10 sztuk kapilar z hemolimfą, a więc jaką ostatecznie ilość hemolimfy wykorzystano do dalszych analiz biochemicznych.
6. Rozdział 3.4. (str. 42) zatytułowano „Ocena rodzin pszczoł” sugerowałabym zmianę tytułu na „Ocena kondycji rodzin pszczoł”, gdyż tak przedstawiono to w celu pracy.
 - Uwagi do rozdziału Wyniki
 - 1. Na str. 47 w rozdziale 4.1.2. „Siła rodziny oraz powierzchnia czerwiu krytego i pokarmu na ramkach” dla grupy doświadczalnej, której podawano mieszankę Tebukonazolu i Glifosatu użyto skrótu literowego G+T, podczas gdy w dalszej części pracy grupa ta oznaczana była skrótem T+G. Należałoby to ujednoczyć.
 - 2. Schemat tytułu poszczególnych tabel w moim odczuciu nie jest do końca prawidłowy, gdyż wyniki przedstawione w tabelach obrazują zarówno wpływ pojedynczych substancji aktywnych, jak i ich mieszanin oraz grupy kontrolnej. Sugerowałabym rozszerzenie lub przereformowanie tych tytułów.
 - 3. Przy omawianiu wyników Autorka czasami posługuje się tylko oznaczeniami literowymi dla poszczególnych grup badawczych, a czasami używa pełnych nazw substancji aktywnych obecnych w formulacji środka ochrony roślin, co nieco utrudnia analizowanie wyników. Sugeruję ujednoczenie w tej kwestii.
 - 4. Przy omawianiu „Powierzchni pokarmu” (str. 52), Autorka podaje, iż powierzchnia pierzgi oceniana 24 lipca była niższą niż 18 lipca, tymczasem w tabeli widnieje data 17 lipca. Dalej Autorka pisze, iż 14 sierpnia we wszystkich grupach odnotowano nieznaczny wzrost powierzchni pierzgi. Nie jest tu jasne w stosunku do czego określono ten wzrost. Jeśli do poprzedniego pomiaru, to w grupie A+T był on ponad 2-krotny, a w grupie T prawie 2-krotny. Wydaje mi się, że trudno to nazwać „nieznacznym wzrostem”. W ostatnim zdaniu przed tabelą, Autorka podaje, iż najmniejszy zapas pierzgi porównując pierwszą ocenę z ostatnią, zgromadziła grupa A+T+G (936,83 cm²), proszę podać skąd ta wartość liczbowo?
 - 5. W rozdziale 4.2. „Wpływ badanych substancji aktywnych obecnych w formulacjach ŚOR na aktywność/poziom wskaźników biochemicznych”, Autorka podaje, że przy skarmianiu pszczoł syropem z dodatkiem tebukonazolu, poziom 5-ciu z 9-ciu badanych wskaźników biochemicznych różnił się istotnie statystycznie i w większości przypadków był niższy (co przedstawiono w tab.13). Nie jest jasne do których wskaźników odnosi się ostatnia część zdania. Jeśli do wybranych 5-ciu, to poziom ich w stosunku do grupy kontrolnej był niższy we wszystkich z wyjątkiem kwasu moczowego, natomiast jeśli odniesiemy to do wszystkich badanych wskaźników, to poziom ich był niższy w 4-ech przypadkach oraz wyższy w 5-ciu, tak więc trudno to uznać za większość.
 - 6. W rozdziale 4.2.1. oraz 4.2.2., Autorka odwołuje się do wyników przedstawionych zarówno w tabeli 13, jak i na wykresach (2-5 oraz 6-10), co wymaga bardzo dużej uwagi czytającego do przeanalizowania tych wyników, tym bardziej, że wykresy są dość małe. Może lepiej byłoby omówić oddzielnie wyniki przedstawione w tabeli i oddzielnie na wykresach?

– Uwagi do rozdziału Podsumowanie

Na str. 72, wers 13, Autorka podaje: cyt. „... badane ŚOR i ich mieszaniny nie wpłynęły na analizowane parametry kondycyjne i wydajnościowe rodzin pszczelich,...” Proszę wyjaśnić jakie parametry wydajnościowe miała Autorka na myśli, gdyż wcześniej nie użyła tego określenia.

– Uwagi do rozdziału Wnioski

Wszystkie wnioski są poprawne, zgodne z uzyskanymi wynikami, jednak wydaje mi się, że Autorka nie udzieliła odpowiedzi na trzecie pytanie ujęte w hipotezach, a dotyczące większej szkodliwości insektycydu w porównaniu do dwóch pozostałych ŚOR. Jestem przekonana, że na podstawie uzyskanych wyników Autorka może sformułować odpowiedź na to pytanie.

Reasumując, wszelkie moje uwagi krytyczne i wskazane uchybienia, w żaden sposób nie umniejszają wartości pracy, którą oceniam bardzo wysoko. Uwagi te należy traktować jako sugestie poprawy pracy w przypadku przygotowywania z niej publikacji, do czego gorąco zachęcam Autorkę.

W świetle wszystkich powyższych argumentów stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Agnieszki Marty Murawskiej pt. „Zmiany poziomu wskaźników biochemicznych oraz kondycji rodziny pszczelej (*Apis mellifera* L.) narażonej na środki ochrony roślin i ich mieszaniny”, wnosi znaczący wkład w rozwój dyscypliny naukowej zootechnika i rybactwo i odpowiada warunkom określonym w art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 roku (Dz.U. z 2022 r. poz. 574 ze zm.), oraz spełnia warunki określone w § 5 ”Trybu postępowania w sprawie nadania stopnia naukowego doktora” wprowadzonego uchwałą nr 3/2021 Senatu Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 29 stycznia 2021 roku. W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr inż. Agnieszki Marty Murawskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.



Dr hab. Monika Fliszkiewicz