

Imię i nazwisko kandydata: mgr Robert Mroczek

Pan - kandydat	
Wpł. dnia	04-02-2026
L.dz.	38

Tytuł rozprawy doktorskiej (po angielsku): "Allelic Diversity and Functional Heterozygosity of the Honey Bee (*Apis mellifera*) Complementary Sex Determiner Gene"

Tytuł rozprawy doktorskiej (po polsku): „Różnorodność oraz funkcjonalna heterozygotyczność alleli genu komplementarnej determinacji płci pszczoły miodnej (*Apis mellifera*)”

Promotor: dr hab. Małgorzata Cebart

Recenzent: dr hab. Karolina Kuszewska

1. Tematyka rozprawy czy tematyka rozprawy doktorskiej dotyczy zagadnień istotnych dla rozwoju dyscypliny nauki biologiczne:

Tematyka rozprawy doktorskiej "Allelic Diversity and Functional Heterozygosity of the Honey Bee (*Apis mellifera*) Complementary Sex Determiner Gene" autorstwa Pana mgr Roberta Mrocza została przedstawiona w formie monografii składającej się ze spisu treści, streszczenia – w języku polskim i języku angielskim, wstępu, celu badań, metod, wyników, dyskusji, podsumowania, literatury oraz spisu rycin i tabel. Przedstawione w powyższej monografii wyniki zostały już wcześniej opublikowane w dwóch międzynarodowych czasopismach znajdujących się na liście filadelfijskiej – PLoS One oraz Applied Science.

Tematyka pracy doktorskiej dotyczy zmienności i funkcjonalności alleli w genie CSD (Complementary Sex Determination) – od którego zależy czy w układach eusocjalnych u pszczoły miodnej rozwinie się samiec czy samica. W dużym uproszczeniu mechanizm polega na tym, że gdy osobnik jest heterozygotą w tym genie, rozwija się w normalną samicę (robotnicę lub matkę pszczelą), gdy jest hemizygotą rozwija się w funkcjonalnego samca, a gdy jest homozygotą rozwija się w bezpłodnego samca, który w naturalnych warunkach eliminowany jest z rodziny pszczelej już na poziomie larwalnym. Badania dotyczące genu CSD są bardzo ważne zarówno z punktu widzenia biologicznego ale także gospodarczego, ponieważ gdy jeden z alleli trutnia jest taki sam jak allel zapłodnionej przez niego matki pszczelej to wtedy z 50% zapłodnionych jaj zaczynają rozwijać się w homozygotyczne trutnie, co w konsekwencji może doprowadzić do wyginięcia rodziny pszczelej. W naturalnym środowisku problem ten jest częściowo eliminowany przez wielokrotną kopulację matki pszczelej z wieloma samcami w czasie lotu weselnego oraz przez różnorodność alleli genu CSD w populacji. Do tej pory jednak, nie wiadomo dokładnie jak wiele różnych alleli genu CSD występuje wśród różnych populacji pszczoły miodnej na świecie.

Pan Robert w swojej pracy doktorskiej pokazał nową metodę genotypowania opartą na analizie robotnic (dokładniej poczwerek robotnic) pszczoły miodnej – a nie jak do tej pory trutni (samców). W opisaną przez Pana Roberta metodzie opierano się na polimorfizmie długości fragmentów restrykcyjnych (T-RFLP) a przedstawione wyniki ujawniły, że do tej pory liczba alleli genu CSD była niedoszacowana. W pracy opisano 137 alleli genu CSD, które pochodziły z zaledwie trzech pasiek (w sumie 19 rodzin pszczelich).

Pan Robert skupił się nie tylko na zidentyfikowaniu różnych alleli ale także na sprawdzeniu jakie genotypy w genie CSD mogą one tworzyć. Opisał też 118 unikalnych genotypów CSD dość równomiernie reprezentowanych w analizowanych próbkach. Co więcej, w dwóch genotypach genów CSD – nazwanych mB-p66 oraz mB-p29, których allele różniły się odpowiednio jedną i czterema pozycjami aminokwasowymi doktorant sprawdził funkcjonalność biologiczną i odkrył, że nawet różnica jednej pozycji aminokwasowej może powodować, że genotyp będzie w pełni funkcjonalny.

2. Wiedza kandydata ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki biologiczne:

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską można stwierdzić, że pan mgr Robert Mroczek posiada szeroką wiedzę z zakresu determinacji płci u owadów, w tym przedstawionej w dysertacji pszczoły miodnej, oraz dużą

wiedzę w zakresie genetyki włączając w to doskonały warsztat genotypowania oraz sprawdzania funkcjonalności genów.

Pan Robert wykazał się dużą wiedzą teoretyczną świadczącą o doskonałym przygotowaniu do realizacji zaplanowanych i przeprowadzonych badań. W syntetycznie przygotowanym wstępie Autor zebrał najważniejsze informacje ściśle związane z tematyką pracy. Zostały one przedstawione w logiczny i konsekwentny sposób. Zastosowane metody zostały przedstawione w klarowny sposób świadczący o zrozumieniu ich podstaw. Zgromadzona wiedza teoretyczna została sprawnie wykorzystana w interpretacji uzyskanych wyników i ich skonfrontowaniu z dostępną literaturą tematu co świadczy o szerokiej wiedzy teoretycznej Doktoranta oraz umiejętności krytycznej analizy otrzymanych wyników.

3. Samodzielność kandydata ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez osobę ubiegającą się o nadanie stopnia doktora:

Realizacja celów badań świadczy o doskonałej znajomości przez Doktoranta technik badawczych oraz umiejętności ich wykorzystania adekwatnie do wytyczonych celów. Przedstawiona do recenzji rozprawa składa się w części składa się danych opublikowanych w dwóch recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym tj. PLoS One oraz Applied Science. W obu pracach Doktorant jest pierwszym autorem, co wskazuje na jego wiodącą rolę w ich powstaniu. Jednak w żadnej części dysertacji nie ma wyraźnych oświadczeń o wkładzie. Jaśniejsze określenie, które części badań zostały przeprowadzone niezależnie, pomogłoby lepiej ocenić zakres wkładu i odpowiedzialności kandydata.

4. Oryginalność rozprawy ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej

Oryginalnym aspektem pracy jest wykonanie genotypowania genu *csd* w rodzinach pszczoły miodnej za pomocą nowej metody opartej na analizie robotnic, a nie jak do tej pory było to robione - trutni. Opisana i opracowana przez Pana Roberta metoda pozwoliła na uchwycenie większej różnorodności wśród alleli genu *csd* u pszczoły miodnej, co także po raz pierwszy zostało opisane w przedstawionej przez pana Roberta dysertacji. Co więcej, doktorant po raz pierwszy pokazał że nawet genotypy o minimalnej różnicy sekwencyjnej (1 i 4 aminokwasy) mogą być funkcjonalne.

Pod względem koncepcyjnym, interpretacyjnym i aplikacyjnym rozprawa przedstawia wysoki poziom oryginalności. W mojej opinii, wnosi ona nową jakość do obszaru badań nad determinacją płci wśród owadów socjalnych, a zawarte w niej wyniki mogą stanowić inspirację dla kolejnych projektów badawczych, także o charakterze interdyscyplinarnym.

5. Pytania i/lub uwagi krytyczne, na które Recenzent oczekuje odpowiedzi kandydata w czasie obrony:

Uprzejmie proszę także o ustosunkowanie się do zagadnień, które są istotne, z mojego punktu widzenia, do zrozumienia idei badań i zastosowania ich rezultatów:

- dlaczego Doktorant do badań wybrał larwy (a właściwie poczwarki) robotnic pszczoły miodnej a nie młode wygrzające się robotnice? – sam wskazuje w dyskusji na to, że ze względu na wykorzystanie poczwarek nie można w pełni wykluczyć tego, że opisane genotypy mB-p66 i mA-p66 mogą być przyczyną częściowej śmiertelności u pszczoł ze względu na nie pełne ujawnienie się cech żeńskich

- doktorant napisał, że liczba form alleli genów CSD była do tej pory niedoprecyzowana ze względu na możliwości metodologiczne, zwraca także uwagę, że różne allele genu CSD mogą występować w różnych populacjach, w związku z tym moje pytanie – jak wiele różnych form alleli można byłoby odkryć, gdyby zamiast osobników z pobliskich populacji do badań pobrać osobniki z populacji oddalonych od siebie np. o

100 lub 500 km? I czy jest jakiś allel, którego występowanie może się częściej powtarzać pomiędzy populacjami, czy zmienność tutaj jest tak duża, że raczej nie dałoby się tego sprawdzić?

- czy zmienność alleli w genie CSD (biorąc pod uwagę tak dużą liczbę alleli w populacji) może zmieniać się w ciągu sezonu i czy Pana próbki były zbierane w ten sposób, żeby uwzględnić zmienność sezonową? Czy może wszystkie zostały zebrane w tym samym czasie (np. w przeciągu 2-3 dni – oczywiście mam na myśli próbki z jednej pasieki).

6. Inne spostrzeżenia dotyczące treści lub formy rozprawy:

Rozprawa jest bardzo dobrze przygotowana. Doktorant zawarł wszystkie elementy, które są niezbędne do przygotowania recenzji. Natomiast chciałam zwrócić uwagę na drobne niedociągnięcia w strukturze doktoratu oraz redakcyjne.

- W metodach w podrozdziale 3.1.1 – Sample collection and sampling location – brakuje mi podstawowych informacji takich jak – czy z danej lokalizacji pszczoły były zbierane w każdym roku, czy co roku były to te same rodziny (itp.) – część tych informacji jest zwarta na str. 50 – jednak brakuje mi tych informacji w metodach

- Podpisy i oznaczenia w rycinach są napisane zbyt małą czcionką (np. ryc. 7, 11, 12 13, 14, 28-31) – bardzo ciężko się to czyta, szczególnie gdy dostaje się tekst wydrukowany i ciężko jest powiększyć sobie samemu rycinę.

7. 7. Ocena końcowa:

Rozprawa doktorska Pana Roberta Mrocza pt. „Allelic Diversity and Functional Heterozygosity of the Honey Bee (*Apis mellifera*) Complementary Sex Determiner Gene” stanowi dojrzałe, kompleksowe i oryginalne opracowanie naukowe

Stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.) oraz wnioskuje o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie nauki biologicznej.

Wnioskuje o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana Roberta Mrocza ze względu na istotne walory naukowe i merytoryczne.

03.02.2026

Data sporządzenia recenzji

Karolina Kuszczewska

dr hab. Karolina Kuszczewska