

PAN - Instytut Immunologii
Wpł. dnia ..1.6.-02-..2026.....
L.dz.46.....

Olsztyn 09.02.2026 r.

dr hab. Maria Iller, prof. UWM

Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgra Roberta Mrocza pt. „**Allelic Diversity and Functional Heterozygosity of the Honey Bee (*Apis mellifera*) Complementary Sex Determiner Gene**” – „**Różnorodność oraz funkcjonalna heterozygotyczność alleli genu komplementarnej determinacji płci pszczoły miodnej (*Apis mellifera*)**” wykonanej pod kierunkiem promotora: dr hab. Małgorzaty Cebrat w Laboratorium Immunologii Molekularnej i Komórkowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk.

Podstawa formalna recenzji

Podstawę formalną opracowania recenzji stanowi uchwała Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu z dnia 11 grudnia 2025 r. zgodnie z wymaganiami określonymi ww art.87 ust. 1-4 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.).

Oryginalność, aktualność i przydatność podjętego problemu naukowego

Podjęty w rozprawie problem badawczy dotyczący różnorodności oraz funkcjonalnej heterozygotyczności alleli genu komplementarnej determinacji płci pszczoły miodnej należy uznać za oryginalny, aktualny i istotny zarówno z punktu widzenia poznawczego, jak i aplikacyjnego. Autor koncentruje się na jednym z kluczowych elementów biologii rozwoju i genetyki populacyjnej owadów społecznych, którego prawidłowe funkcjonowanie warunkuje przeżywalność rodziny pszczelej oraz efektywność reprodukcji.

Oryginalność pracy przejawia się przede wszystkim w zaproponowaniu autorskiego podejścia do genotypowania alleli *csd* opartego na analizie robotnic, a nie trutni, co umożliwia uzyskanie szerszego i bardziej reprezentatywnego obrazu różnorodności allelicznej w rodzinach pszczelich. Istotnym elementem nowatorskim jest również połączenie analiz populacyjnych z funkcjonalną oceną par alleli oraz predykcjami strukturalnymi białka *csd* z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych, co pozwala analizować mechanizm determinacji płci, nie tylko na poziomie sekwencji, lecz także na poziomie struktury i oddziaływań białkowych. Aktualność podjętej tematyki wynika z rosnącego znaczenia badań nad kondycją populacji pszczoły miodnej w kontekście obserwowanego spadku liczebności zapylaczy, presji środowiskowej oraz intensyfikacji hodowli. Lepsze poznanie mechanizmów warunkujących zmienność genu *csd* może mieć potencjalne znaczenie dla ograniczania strat rodzin pszczelich wynikających z powstawania diploidalnych trutni, a tym samym dla poprawy stabilności populacji pszczelich. Praca wpisuje się więc w aktualne trendy badań z pogranicza biologii molekularnej, ekologii i nauk rolniczych. Rozprawa doktorska dostarcza nowe informacje dotyczące kryteriów funkcjonalnej heterozygotyczności alleli *csd*, które mogą zostać wykorzystane w dalszych badaniach podstawowych oraz w perspektywie – w praktyce hodowlanej. Uzyskane wyniki mogą stanowić podstawę do opracowania metod monitorowania zmienności genetycznej rodzin pszczelich oraz wspomagania doboru hodowlanego matek pszczelich. Tym samym rozprawa poszerza wiedzę teoretyczną i jednocześnie wskazuje potencjalne kierunki zastosowań praktycznych. Podsumowując, problem naukowy podjęty w rozprawie cechuje się wysokim stopniem oryginalności, aktualności i użyteczności, a zaproponowane podejście badawcze wnosi istotny wkład w rozwój wiedzy o genetycznych podstawach funkcjonowania pszczoły miodnej.

Ogólna charakterystyka przedstawionego do recenzji manuskryptu

Rozprawa doktorska przedstawiona do recenzji ma formę manuskryptu przedstawionego w języku angielskim. Wyniki badań stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w postaci dwóch artykułów naukowych: Mroczek R, Laszkiewicz A, Blazej P, Adamczyk-Węglarzy K, Niedbalska-Tarnowska J, Cebrat M. New insights into the criteria of functional heterozygosity of the *Apis mellifera* complementary sex determining gene-Discovery of a functional allele pair differing by a single amino acid. PLoS One. 2022;17(8):e0271922. doi:10.1371/journal.pone.0271922 (IF – 3,7, liczba punktów MNiSW – 100) oraz Mroczek R, Niedbalska-Tarnowska J, Moškrič A, Adamczyk-Węglarzy K, Laszkiewicz A, Cebrat M. The

Potential of Complementary Sex-Determiner Gene Allelic Diversity for Studying the Number of Patriline within Honeybee Colonies. *Applied Sciences*. 2024;14(1):26. <https://doi.org/10.3390/app14010026> (IF - 2,7 liczba punktów MNiSW – 100). Układ dysertacji jest zgodny z wymaganiami stawianymi rozprawom doktorskim i zawiera wszystkie wymagane rozdziały. Liczy 96 stron wydruku komputerowego, obejmującego 2 strony spisu treści, 2 strony streszczenia w języku angielskim oraz 2 strony streszczenia w języku polskim, 1 stronę wykazu skrótów wraz z objaśnieniami, 11 stron wstępu wraz z rycinami, 1 stronę celów badawczych, obejmującą cel główny oraz 4 precyzyjnie sformułowane zadania szczegółowe, 13 stron omówienia materiałów i metod z rycinami i tabelami, 30 stron wyników, 7 stron dyskusji, 1 stronę podsumowania i wniosków, 7 stron piśmiennictwa, 2 strony opisu rycin i tabel oraz 2 strony osiągnięć naukowych, udziału w konferencjach oraz w projekcie grantowym pt. "Charakterystyka czynników wpływających na zróżnicowanie alleli genu *csd* w populacji pszczoły miodnej (*Apis mellifera*)" Narodowego Centrum Nauki (NCN) UMO-2018/31/B/NZ9/00969 w latach 2022-2025.

Ocena przedstawionego do recenzji manuskryptu

Tytuł pracy jasno precyzuje przedmiot rozprawy w zakresie prowadzonych badań. Praca rozpoczyna się Wstępem, w którym Doktorant naświetlił problematykę dotyczącą zagadnienia determinacji płci u pszczoły miodnej w kontekście zmienności allelicznej genu *csd* oraz jej znaczenia funkcjonalnego. Doktorant we wprowadzeniu do części badawczej poprawnie nakreślił biologiczne podstawy haplodiploidii, wskazując, że samce rozwijają się z niezapłodnionych jaj jako osobniki haploidalne, natomiast samice z jaj zapłodnionych jako osobniki diploidalne. Autor w sposób klarowny wyjaśnił mechanizm determinacji płci zależnej od pojedynczego locus (sl-CSD), w którym rozwój samic warunkowany jest heterozygotycznością w obrębie genu *csd*. Trafnie podkreślono, że homozygotyczność w tym locus prowadzi do powstawania bezpłodnych samców diploidalnych, co stanowi istotne obciążenie genetyczne, zwłaszcza w populacjach małych lub silnie spokrewnionych. W mojej ocenie przedstawienie tła biologicznego zostało wykonane poprawnie i stanowi dobrą podstawę do dalszych rozważań eksperymentalnych. Dodatkowo we Wstępie, Doktorant zamieścił 5 rycin, które istotnie ułatwiają odbiór omawianej problematyki i podnoszą czytelność tej części pracy. Należy również podkreślić, że w tej części rozprawy Autor konsekwentnie odwołuje się do dorobku innych badaczy, przywołując literaturę przedmiotu w celu potwierdzenia prezentowanych informacji i właściwego osadzenia pracy w aktualnym stanie wiedzy. W mojej

ocenie jest to bardzo dobra analiza zgromadzonego piśmiennictwa, poświęconego omawianemu zagadnieniu. Merytoryczną wartość wstępu oceniam wysoko.

W rozdziale Cele badawcze, Doktorant przedstawił główny cel badawczy, który obejmował zbadanie różnorodności genetycznej i heterozygotyczności funkcjonalnej uzupełniającego genu determinującego płęć w populacjach pszczoły miodnej. Cel został osiągnięty poprzez realizację 4 zadań: opracowanie wydajnej metodyki genotypowania do identyfikacji alleli *csd* u pszczoł robotnic, charakterystyka alleli *csd* w badanych populacjach, strukturalne przewidywanie kompleksów białkowych *Csd* przy użyciu AlphaFold2 w celu oceny wzorców i różnic między kompleksami funkcjonalnymi i niefunkcjonalnymi. Ostatnie zadanie obejmowało badanie potencjalnych mechanizmów mutacji przyczyniających się do powstawania nowych alleli *csd* w populacjach pszczoły miodnej.

Rozdział Materiały i metody został przygotowany w sposób bardzo przejrzysty i uporządkowany. Na wstępie Doktorant przedstawił użyte materiały i odczynniki w formie tabeli, co znacząco ułatwia orientację w przebiegu badań. Podrozdział dotyczący pobierania próbek i ich lokalizacji zawiera klarowne informacje zarówno o miejscach pobrania, jak i zastosowanych metodach. Ponadto podane zostały sekwencje oligonukleotydów użytych w badaniach w formie tabelarycznej, co zwiększa przejrzystość pracy. Dodatkowo praca zawiera szczegółowe informacje dotyczące bakterii i plazmidu, uzupełnione o odpowiednie ryciny, ułatwiając czytelnikowi zrozumienie eksperymentu. Opis metod badawczych jest bardzo szczegółowy i precyzyjny, pozwala to na pełne odwzorowanie prowadzonych eksperymentów przez innych badaczy.

Rozdział Wyniki jest bogaty w 9 tabel, ciekawie ilustrujące rezultaty uzyskane w badaniach. Doktorant w rozdziale tym załączył 21 rycin, które w obrazowy sposób przedstawiają uzyskane wyniki. Ponadto Doktorant podzielił rozdział na podrozdziały dotyczące ustalenia metody genotypowania, różnorodności *csd*, nowego spojrzenia na funkcjonalną heterozygotyczność alleli, wykrywanie wariantów *csd* w plemnikach trutni. Wyniki są najcenniejszą i przez to najważniejszą dla oceny recenzenta częścią rozprawy doktorskiej. Doktorant opracował ten rozdział bardzo szczegółowo, konsekwentnie i jasno przedstawiając uzyskane wyniki. Ta część dysertacji została przygotowana rzetelnie, z dużą dbałością o szczegóły, co świadczy o wnikliwości Autora oraz bardzo dobrym opanowaniu analizowanego materiału. Rozdział cechuje się bardzo dobrą strukturą i wysoką wartością merytoryczną i zasługuje na uznanie.

Rezultaty badań własnych zostały omówione i skonfrontowane z wynikami innych autorów w rozdziale Dyskusja. Rozdział, obejmujący 8 stron, został opracowany w sposób spójny i logiczny. Przytaczane cytowania są trafne i dobrze komponują się z zestawieniem wyników Doktoranta. Na uwagę zasługuje również fakt, że literatura została dobrana celnie, a wśród wybranych publikacji znajdują się pozycje bardzo aktualne, co świadczy o dobrej orientacji Autora w stanie wiedzy w danej dziedzinie.

W części Podsumowanie i wnioski Doktorant przedstawił syntetyczne omówienie wyników badań dotyczących różnorodności allelicznej genu *csd* u pszczoły miodnej. Autor wykazał znaczną zmienność alleliczną tego genu we wszystkich analizowanych lokalizacjach, identyfikując 137 unikalnych alleli *csd* na podstawie 2 668 próbek robotnic. Doktorant wskazał, że poziom tej różnorodności nie różnił się istotnie pomiędzy badanymi lokalizacjami i mieścił się w zakresie wartości opisywanych wcześniej w literaturze. W podsumowaniu omówił również wyniki genotypowania par alleli *csd*, podkreślając możliwość powstawania funkcjonalnych kombinacji heterozygotycznych nawet przy minimalnych różnicach sekwencyjnych. Autor odniósł się także do struktury białka *csd* opartych na AlphaFold2, wskazując na potencjalną rolę struktur β -harmonijkowych w interakcjach międzyallelowych, jednocześnie zaznaczając konieczność ich weryfikacji eksperymentalnej. W końcowej części Doktorant przedstawił raz jeszcze wyniki analizy mutowalności genu *csd* w nasieniu trutni, sugerując udział innych mechanizmów generowania zmienności allelicznej niż dotychczas postulowane, oraz zwrócił uwagę na ograniczenia metod PCR w detekcji alleli o niskiej częstości występowania.

Rozdział Piśmiennictwo obejmuje 76 pozycji uszeregowanych alfabetycznie i zostało opracowane w sposób rzetelny, logiczny oraz przejrzysty. Dobór cytowanej literatury jest trafny i w pełni odpowiada tematyce rozprawy, a jednocześnie świadczy o bardzo dobrej orientacji Autora w aktualnym stanie wiedzy w omawianym obszarze badawczym.

Na końcu rozprawy doktorskiej zamieszczono zestawienie osiągnięć naukowych Autora, obejmujące publikacje w formie artykułów naukowych, udział w krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych oraz realizację projektu badawczego finansowanego ze środków grantowych. Osiągnięcia te świadczą o wysokiej aktywności naukowej Doktoranta, jego samodzielności badawczej oraz zdolności do prowadzenia badań na poziomie odpowiadającym aktualnym standardom naukowym.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa jest na prezentuje bardzo wysoki poziom merytoryczny, metodologiczny i poznawczy. Rozprawa jest logicznie uporządkowana, zachowuje spójność narracyjną oraz poprawność terminologiczną. Język pracy jest naukowy, precyzyjny i komunikatywny. Autor posługuje się poprawną nomenklaturą biologiczną i genetyczną. Doktorant wykazał się samodzielnością badawczą, bardzo dobrą znajomością problematyki. Zastosowana metodyka odpowiada standardom obowiązującym w tego typu badaniach. Doktorant wykazał bardzo dobre opanowanie warsztatu badawczego, a uzyskane wyniki stanowią istotny wkład do dotychczasowej wiedzy na temat zagadnień genetycznych dotyczących pszczoły miodnej (*Apis mellifera*). Jest to cenna praca pod względem dużych walorów aplikacyjnych i poznawczych. Podsumowując, rozprawa doktorska stanowi spójne, rzetelnie przeprowadzone i wartościowe opracowanie naukowe, wnoszące istotny wkład w poznanie mechanizmów determinacji płci u pszczoły miodnej oraz zmienności genu *csd*. Praca spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, a przedstawione wyniki świadczą o dojrzałości naukowej Autora oraz jego umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska **mgra Roberta Mrocza** pt. „**Allelic Diversity and Functional Heterozygosity of the Honey Bee (*Apis mellifera*) Complementary Sex Determiner Gene**”, odpowiada wymogom określonym w art. 187 ust. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2024., poz. 1571 z późn. zm). Przedkładałam zatem Radzie Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu, wniosek o dopuszczenie mgra Roberta Mrocza do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora. Jednocześnie z uwagi na dużą wartość poznawczą i aplikacyjną pracy wnioskuję o jej wyróżnienie.

dr hab. Maria Iller, prof. UWM

