

# Załącznik 2a

## Autoreferat w języku polskim

---

**Grzegorz Zaleśny**

**Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
Zakład Systematyki i Ekologii Bezkręgowców  
ul. Kozuchowska 5b  
51-631 Wrocław**

---

**Imię i nazwisko:**

Grzegorz Zaleśny

**Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:**

**2010** - Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Biologicznych; uzyskany stopień: doktor nauk biologicznych w zakresie biologii;

Temat pracy: „Analiza ekologiczna i filogenetyczna nicieni z rodzaju *Syphacia* Seurat, 1916 pasożytujących u gryzoni”

**2005** - Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Przyrodniczych; uzyskany tytuł: magister biologii, specjalność mikrobiologia;

Temat pracy: „Porównanie profili antygenowych koegzystujących nicieni *Aspiculuris tetraptera* i *Syphacia obvelata* u myszy laboratoryjnych”

**2003** - Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Przyrodniczych; studia licencjackie w Zakładzie Fizykochemii Drobnoustrojów; uzyskany tytuł: licencjat;

Temat pracy: „Immunologiczne aspekty transformacji nowotworowej”

**Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych:**

**02.2012 – obecnie:** Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Instytut Biologii; adiunkt, zatrudniony na etacie naukowo-dydaktycznym

**04.2011 – 01.2012:** Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Instytut Biologii; asystent, zatrudniony na etacie naukowo-dydaktycznym

**10.2010 – 03.2011:** Uniwersytet Wrocławski, Zakład Parazytologii; specjalista, zatrudniony na etacie naukowo-technicznym

**10.2007 – 09.2010:** Uniwersytet Wrocławski, Zakład Parazytologii; samodzielny biolog, zatrudniony na etacie inżyniersko-technicznym

**Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):**

Cykl prac stanowiących osiągnięcie obejmuje **6 publikacji**, które powstały w latach 2010-2015. **Sumaryczny IF** ww. prac **wynosi 13,278** a **liczba punktów MNiSW: 158**. Wartości IF oraz punkty ministerialne zostały skalkulowane w oparciu o wykazy zgodne z rokiem opublikowania.

Tytuł osiągnięcia:

***Ukryta różnorodność – badania nad specyficznością żywicielską i specjacją helmintów pasożytujących u gryzoni***

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia:

1. **Zaleśny G.\***, Hildebrand J., Popiołek M. 2010. Molecular identification of *Heterakis spumosa* Schneider, 1866 (Nematoda; Ascaridida, Heterakidae) within the muroid hosts: *Rattus norvegicus*, *Apodemus agrarius* and *A. flavicollis* with comparative analysis of its occurrence in two mice species. *Annales Zoologici* 60: 647-655.
2. **Zaleśny G.\***, Hildebrand J. 2012. Molecular identification of *Mesocestoides* spp. from intermediate hosts (rodents) in central Europe (Poland). *Parasitology Research* 110: 1055-1061.
3. **Zaleśny G.\***, Hildebrand J., Paziewska-Harris A., Behnke JM., Harris PD. 2014. *Heligmosomoides neopolygyrus* Asakawa & Ohbayashi 1986 a cryptic Asian nematode infecting the striped field mouse *Apodemus agrarius* in Central Europe. *Parasites & Vectors* 7: 457 (1-10)
4. Harris PD., **Zaleśny G.**, Hildebrand J., Paziewska-Harris A., Behnke JM., Tkach VV., Hwang YT., Kinsela JM. 2015. The status of *Heligmosomoides americanus*, representative of an American clade of vole-infecting nematodes. *Journal of Parasitology* 101: 382-385.

5. Kanarek G., **Zaleśny G.**, Czujkowska A., Sitko J., Harris PD. 2015. On the systematic position of *Collyricloides massanae* Vaucher, 1969 (Platyhelminthes: Digenea) with notes on distribution of this trematode species. *Parasitology Research* 114: 1495-1501.
6. Hildebrand J., Adamczyk M., Laskowski Z., **Zaleśny G.**\* 2015. Host-dependent morphology of *Isthmiophora melis* (Schrank, 1788) Luhe, 1909 (Digenea, Echinostomatinae) - morphological variation vs. molecular stability. *Parasites & Vectors* 8: 481 (1-8)

\* autor korespondencyjny lub autor wiodący

**Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

**Ukryta różnorodność – badania nad specyficznością żywicielską i specjacją helmintów pasożytujących u gryzoni**

Jedną z głównych cech organizmów pasożytniczych, wpływającą na tworzenie i funkcjonowanie układów pasożyt-żywiciel, jest specyficzność żywicielska, definiowana jako zdolność pasożyta do wykorzystywania określonych organizmów jako żywicieli (Poulin i wsp. 2011). Zgodnie z taką definicją pasożyty o najwyższej specyficzności są związane z jednym gatunkiem żywiciela, a wraz ze spadkiem poziomu specyficzności spektrum żywicielskie wzrasta (Poulin 2007). Z ewolucyjnego punktu widzenia strategią bardziej korzystną powinno być posiadanie szerokiego spektrum żywicielskiego, w naturalny sposób zwiększającego szansę na zamknięcie cyklu życiowego. Jednak wśród organizmów pasożytniczych dominują specjaliści o ograniczonej puli żywicieli, co stanowi paradoks ewolucyjny układów pasożyt-żywiciel. Jednym z czynników kształtujących specyficzność żywicielską jest specjacja żywicieli. Jeśli w toku ewolucji powstała bariera zapobiegająca przepływowi genów pomiędzy dwoma populacjami żywiciela, to dochodziło również do specjacji organizmów pasożytniczych. Efektem takiej kospecjacji jest korelacja pokrewieństw filogenetycznych żywicieli i ich pasożytów. Im wyższy poziom specyficzności żywicielskiej tym pełniejsza będzie zbieżność pokrewieństwa ewolucyjnego żywicieli i ich pasożytów. Pełna korelacja jest określana jako reguła Farenholza i jest często stosowana jako hipoteza zerowa dla innych scenariuszy ewolucyjnych (Poulin 2007).

Gatunki pasożytnicze, podobnie jak organizmy wolnożyjące, mogą powstawać na drodze specjacji allopatrycznej (która jest zgodna z regułą Farenholza), perypatrycznej (albo parapatrycznej) oraz sympatrycznej. W przypadku specjacji perypatrycznej mała populacja z granicy zasięgu zostaje odizolowana w wyniku działania dryfu genetycznego czy inbrodu i może dać początek nowej linii ewolucyjnej. U organizmów pasożytniczych takiemu procesowi może towarzyszyć tzw. „host switching”. W rezultacie takiego wydarzenia jeden gatunek pasożyta wykorzystuje dwa różne gatunki żywicielskie. Specjacja sympatryczna zachodzi wtedy, gdy nowy gatunek powstaje bez jakiegokolwiek bariery fizycznej czy geograficznej. Dla pasożytów taki scenariusz, rozpatrywany przy wyjaśnianiu specjacji w obrębie jednego gatunku żywicielskiego, określany jest mianem specjacji synksenicznej lub duplikacji (Huyse i wsp. 2005; Loker i Hofkin 2015). O ile w przypadku organizmów wolnożyjących specjacja sympatryczna uznawana jest za kontrowersyjną, w przypadku pasożytów specjacja synkseniczna wydaje się być bardziej prawdopodobną i związaną ze zmiennością wewnątrzgatunkową populacji żywiciela oraz sympatrycznym występowaniem pasożytów. Innym czynnikiem wpływającym na specyficzność żywicielską jest selekcja naturalna. W tym przypadku również ujawniają się istotne różnice w działaniu doboru na organizmy pasożytnicze i wolnożyjące. Pasożyty podlegają działaniu doboru naturalnego oddziałującego na pasożyta i na żywiciela oraz doboru płciowego żywiciela, podczas gdy żywiciel podlega działaniu doboru naturalnego i płciowego, natomiast na większość wolnożyjących przedstawicieli grup systematycznych, z których wywodzą się organizmy pasożytnicze, oddziałuje jedynie dobór naturalny.

Dokładne poznanie i określenie pełnego spektrum żywicielskiego pasożytów ma istotne znaczenie dla oszacowania różnorodności gatunkowej. Różnorodność biologiczna wyrażana jako liczba wszystkich gatunków zamieszkujących Ziemię szacowana jest na ok. 3-10 milionów, z czego dotychczas opisanych zostało około 1,4 miliona, w tym mniej więcej 40% to organizmy pasożytnicze (Dobson i wsp. 2008). Tylko w samej grupie helmintów znanych jest około 75 000 gatunków pasożytujących na kręgowcach, których liczba jest szacowana na około 45 000 (Poulin i Mouillot 2004). Jednakże te dane wydają się być mocno niedoszacowane, co potwierdziło się po wprowadzeniu technik biologii molekularnej do taksonomii. Zastosowanie tych metod ujawniło szereg gatunków kryptycznych, czyli takich, które są morfologicznie nierozróżnialne, ale na tyle odrębne genetycznie, że mogą reprezentować odrębne taksony (Hung i wsp. 1999; Jousson i wsp. 2000). To z kolei zmienia dane szacunkowe

liczby gatunków pasożytów; w grupie helmintów pasożytujących na kręgowcach ta liczba według niektórych autorów może wzrosnąć nawet do 300 tysięcy (Dobson i wsp. 2008). Taka kryptyczna różnorodność może w oczywisty sposób wpłynąć na pojmowanie specyficzności w układach pasożyt-żywiciel. W przypadku 'gatunków' wcześniej uznawanych za mało specyficzne może to skutkować ujawnieniem szeregu gatunków kryptycznych, charakteryzujących się wysoką specyficznością. Należy również pamiętać o zjawisku odwrotnym, tj. o 'gatunkach' zróżnicowanych morfologicznie, które na poziomie molekularnym są nierozróżnialne. U organizmów pasożytniczych jest to dość częste zjawisko powodowane m.in. wpływem żywiciela („host-induced phenotype”) czy efektem przegęszczenia („crowding effect”) (Ponce de Leon 1995; Hildebrand i wsp. 2015).

W przypadku pasożytniczych helmintów, podobnie jak u innych grup organizmów, problemem aktualnym pozostaje definicja gatunku. Najpowszechniej i standardowo stosowana jest biologiczna koncepcja gatunku wprowadzona przez Mayra w 1942, w myśl której gatunek „to wszystkie populacje, których osobniki potencjalnie mogą się ze sobą krzyżować w warunkach naturalnych i wydawać płodne potomstwo” lub „wspólnota rozrodcza populacji, izolowana rozrodczo od innych wspólnot, która zajmuje określoną niszę ekologiczną”. Ta koncepcja, mająca zastosowanie dla większości gatunków wolnożyjących i rozmnażających się płciowo, w przypadku helmintów może być tylko rzadko stosowana ze względu na ograniczone możliwości krzyżowania się osobników w warunkach laboratoryjnych, i związany z tym brak możliwości weryfikacji założeń biologicznej koncepcji gatunku. W związku z powyższym, w dalszym ciągu powszechnie stosowana jest XIX-wieczna morfologiczna koncepcja gatunku, oparta na podobieństwie morfologicznym jako głównym kryterium wyodrębniania taksonów. Praktycznie do końca lat 90-tych XX wieku we wszystkich opracowaniach z zakresu systematyki, taksonomii i filogenetyki helmintów wykorzystywano kryterium podobieństwa morfologicznego. Przedstawiciele Platyhelminthes i Nematoda to organizmy miękkie, zasadniczo pozbawione zchitynizowanych struktur morfologicznych. Za istotne w identyfikacji i klasyfikacji danej grupy uznaje się dane metryczne, takie jak podstawowe wymiary i indeksy oraz położenie i kształt struktur anatomicznych. Ograniczona pula cech, które mogą być wykorzystane do identyfikacji gatunków a także ich podatność na zmiany powodowane m.in. wpływem żywiciela czy środowiska, wpływa znacząco na właściwe rozpoznanie gatunków a w konsekwencji może prowadzić do niewłaściwej interpretacji poziomu specyficzności żywicielskiej. Dlatego też znaczący postęp związany z systematyką

i klasyfikacją pasożytniczych helmintów nastąpił wraz z implementacją badań molekularnych. Metody biologii molekularnej umożliwiają otrzymanie wyników o wysokim współczynniku powtarzalności w krótkim czasie. W genomie istnieją obszary różniące się stopniem zmienności, dlatego możliwy jest dobór sekwencji odpowiedni do analizowanego poziomu taksonomicznego. Obszary wysoce zmienne, w których zachodzą częste mutacje, wykorzystuje się zwykle do identyfikacji osobników. Sekwencje umiarkowanie zmienne, np. niektóre geny mitochondrialne oraz wewnętrzne i zewnętrzne sekwencje transkrybowane, rozdzielające geny rybosomalne, mają zastosowanie w identyfikacji gatunkowej. Badania na wyższych poziomach taksonomicznych prowadzi się z wykorzystaniem konserwatywnych sekwencji, takich jak geny kodujące białka funkcjonalne oraz DNA kodujące małą i dużą podjednostkę rybosomalnego RNA. Jedną z ostatnio wypracowanych strategii taksonomicznych polega na identyfikacji gatunków wyłącznie na podstawie genetycznego kodu identyfikacyjnego (tzw. „barcoding”). Do tego celu stosuje się fragment genu oksydazy cytochromu c (COI) o długości ok. 650 par zasad (Freeland 2008). Takie wykorzystanie sekwencji barkodowej ma podwójne zastosowanie; po pierwsze służy identyfikacji gatunków, poprzez porównywanie udokumentowanych sekwencji, po drugie umożliwia detekcję nowych taksonów na podstawie samej sekwencji. O ile pierwszy aspekt wykorzystania barkodów nie budzi kontrowersji, to w przypadku stosowania sekwencji barkodowej jako jedyne kryterium wyodrębniania gatunków problemem pozostaje trudny do oszacowania i zróżnicowany zakres zmienności wewnątrzgatunkowej, wyznaczającej granice gatunku. Z tego powodu powszechnie staje się stosowanie więcej niż jednego markera molekularnego do rozważań taksonomicznych i filogenetycznych. Po wielu latach prób został wypracowany wzorzec postępowania przy doborze markerów molekularnych, w zależności od analizowanego poziomu taksonomicznego. Dla taksonów szczebla rodzajowego i wyższych najczęściej stosowane są markery małej lub dużej podjednostki rybosomalnej (18S rDNA lub 28S rDNA), natomiast do rozstrzygania problemów związanych z klasyfikacją organizmów na poziomie gatunkowym najczęściej stosowane są markery ITS-1 i ITS-2 (rDNA) oraz geny mitochondrialne takie jak COI, cyt b czy nad1.

Ze względu na zróżnicowany behavior, adaptacje środowiskowe oraz preferencje pokarmowe, układy pasożyt-żywcicieli u przedstawicieli poszczególnych gromad kręgowców wykazują odmienny charakter. Na przykład ptaki, charakteryzujące się ciągłością populacji na dużych obszarach, mają stabilną i bogatą w gatunki helmintofaunę (np. Sitko 1993; Simkova

i wsp. 2003; Kanarek i Zaleśny 2014), podczas gdy gryzonie, ze względu na silną antropopresję i lokalne uwarunkowania środowiskowe, są przykładem grupy żywicielskiej, której helmintofauna jest dynamiczna i w znacznym stopniu zależna od lokalnych warunków środowiskowych (Behnke i wsp. 1999; Bajer i wsp. 2005; Behnke i wsp. 2008a i b). Drobne ssaki są żywicielami licznych gatunków pasożytów i rezerwuarem wielu chorób niebezpiecznych dla ludzi i zwierząt. Gryzonie prezentują najbardziej spektakularne przykłady ewolucyjnej radiacji współczesnych ssaków, ponadto kosmopolityczność tej grupy i występowanie w dużych populacjach stawia je w kręgu organizmów stanowiących dogodny model do badania mechanizmów wpływających na przebieg procesów fizjologicznych, behawioralnych, ekologicznych i ewolucyjnych. Ochrona różnorodności biologicznej, jak również kontrola populacji zwierząt jest niemożliwa bez zrozumienia funkcjonowania i roli czynników, które regulują dynamikę populacji. Pasożyty są jednym z tych czynników. Silnie wpływają na liczebność i skład populacji swoich żywicieli, a zrozumienie relacji między drobnymi ssakami i ich pasożytami jest istotne także z tego powodu (Morand i wsp. 2006).

W Polsce gryzonie reprezentowane są przez 31 gatunków (Bogdanowicz i wsp. 2014), z czego ponad połowa objęta jest ochroną całkowitą bądź częściową. Do najpospolitszych przedstawicieli rodzimej fauny należą gatunki terenów otwartych - nornik zwyczajny *Microtus arvalis* i mysz polna *Apodemus agrarius*, gatunki leśne – nornica ruda *Myodes glareolus* i mysz leśna *Apodemus flavicollis* oraz gatunki synantropijne - mysz domowa *Mus musculus* i szczer wędrowny *Rattus norvegicus*. Pomimo, że pasożyty gryzoni od dawna stanowią obiekt badań, wciąż ukazują się prace z zakresu systematyki i taksonomii, w których autorzy na podstawie badań morfometrycznych bądź genetycznych opisują nowe gatunki pasożytów lub dokonują redeskrypcji na poziomie rodzajowym albo gatunkowym. Pasożyty gryzoni wydają się być nadal stosunkowo słabo poznane. Badania faunistyczno-taksonomiczne i ekologiczne przyczyniają się do wzrostu wiedzy o bioróżnorodności, a także pozwalają wyjaśniać złożone zależności, jakie występują w specyficznym układzie pasożyt-żywiciel.

Pomimo obserwowanej w ostatnich latach intensyfikacji badań dotyczących statusu taksonomicznego pasożytniczych helmintów gryzoni w kontekście tworzenia się i ewolucji układów pasożyt-żywiciel, w dalszym ciągu brak odpowiedzi na pytania o naturę tych związków. W przedstawionym do oceny osiągnięciu starałem się na wybranych przykładach odpowiedzieć na niektóre z tych pytań, a także odnieść się do szerszego kontekstu powstawania, funkcjonowania i ewolucji układów pasożyt-żywiciel u gryzoni.



Pierwszy przykład dotyczy tasiemców z rodzaju *Mesocestoides*, z rodziny Mesocetoididae Fuhrmann, 1907, która obejmuje pasożyty ssaków drapieżnych (Canidae, Felidae, Mustelidae), rzadziej ptaków. Jedną z cech charakterystycznych tej rodziny jest złożony (trójżywieliwski) cykl życiowy. Cysticerkoid jest formowany u pierwszego żywiciela pośredniego (roztocze z podrzędu Oribatida); w organizmie gryzoni będących zazwyczaj drugim żywicielem pośrednim wykształca się kolejne stadium larwalne – tetratyridium. Identyfikacja gatunkowa postaci dorosłych w oparciu o cechy morfologiczne jest w tej grupie problematyczna (Literak i wsp. 2006; Preimer 1982; Tenora 2005), a w przypadku postaci larwalnych niemożliwa. Z danych literaturowych wynika także, że najczęściej stwierdzanym gatunkiem u ssaków drapieżnych w Europie jest *Mesocestoides lineatus*, natomiast tasiemce z tej grupy znajdowane u gryzoni były określane jako *Mesocestoides* sp. lub - zgodnie z zasadą przeniesienia z żywicieli ostatecznych – *Mesocestoides lineatus*. Dopiero kompleksowe badania Hrcckovej i wsp. (2011) dotyczące identyfikacji molekularnej i morfologicznej tasiemców z rodzaju *Mesocestoides* występujących w środkowo-europejskich populacjach lisa rudego *Vulpes vulpes* wykazały, że gatunkiem dominującym jest *M. litteratus*. W naszych badaniach podjęliśmy próbę ustalenia statusu taksonomicznego form larwalnych tasiemców z rodzaju *Mesocestoides* w populacjach dolnośląskich gryzoni.

Kolejnym ciekawym przykładem jest przywra *Collyricloides massanae*. Zgodnie z ostatnią klasyfikacją, dokonaną wyłącznie w oparciu o kryteria morfologiczne, rodzina Collyriclidae została włączona do nadrodziny Gorgoderoidea Loss, 1899 i obejmuje dwa monotypowe rodzaje: *Collyriclum* Kossack, 1911 oraz *Collyricloides* Vaucher, 1969 (Blair i Barton 2008). Rodzaj *Collyricloides* został utworzony dla przywr pasożytujących u gryzoni i występujących w cystach na ścianie jelita; są one bardzo podobne do przywr z rodzaju *Collyriclum*. Główną, a zarazem bardzo istotną cechą odróżniającą te dwa rodzaje jest liczba przyssawek: *Collyriclum* posiada tylko przyssawkę gębową a *Collyricloides* dwie (gębową i brzusznią). Najnowsze badania Heneberga i Literaka (2013) oraz Kanarka i wsp. (2014) wyjaśniły kwestię przynależności przywr *Collyriclum faba* i w rezultacie rodzaj *Collyriclum* został umieszczony w nadrodzinie Microphalloidea. Oprócz wcześniej wspomnianej różnicy w liczbie przyssawek oba te rodzaje różnią się także innymi cechami, takimi jak położenie otworu płciowego, torebka cirrusa czy pęcherzyk nasienny. Biorąc pod uwagę pełen zestaw różnic pomiędzy rodzajami wydaje się mało prawdopodobne, że są one ze sobą blisko spokrewnione. Dlatego też przyjęliśmy założenie, że podobieństwo pomiędzy *Collyriclum*

i *Collyricloides* jest powierzchowne i wynika raczej z konwergencji powodowanej zajmowaniem tej samej niszy (lokalizacja pozajelitowa, formowanie cysty) niż z faktycznych bliskich relacji filogenetycznych.

Dość dużo nieścisłości taksonomicznych i ewolucyjnych dotyczy także nicieni z rodziny Heligmosomidae. Nicienie z rodzaju *Heligmosomoides* są powszechnie występującymi pasożytami jelitowymi w populacjach dziko żyjących i laboratoryjnych gryzoni. Ze względu na swoje silne właściwości immunosupresyjne są określane mianem „architektów” zgrupowań pasożytniczych u swoich żywicieli. Najlepiej poznanym gatunkiem z tego rodzaju jest *H. bakeri*, laboratoryjny, modelowy niciel występujący u przedstawicieli rodzaju *Mus*. Jednakże wiedza na temat pozostałych gatunków jest bardziej ograniczona i nawet odrębność gatunkowa *H. bakeri* w stosunku do *H. polygyrus* występującego u myszy z rodzaju *Apodemus* jest dyskusyjna. Te wszystkie nieścisłości i kontrowersje biorą się z bardzo ubogich opisów oryginalnych gatunków, mocno ograniczonej liczby cech specyficznych gatunkowo oraz braku materiału w postaci holotypów dla najwcześniej opisanych gatunków, jak chociażby *H. polygyrus* – opisanego jako *Strongylus polygyrus* przez Dujardina w 1845. Dodatkowo status *H. polygyrus*, jako gatunku charakteryzującego się szerokim spektrum żywicielskim, uległ zmianie w wyniku odkrycia, że ten takson występuje w populacjach swoich żywicieli w formie licznych odrębnych geograficznie kładów, które mogą reprezentować gatunki kryptyczne (Nieberding i wsp. 2008). W roku 2010 Behnke i Harris wskazali na silne podobieństwo molekularne pomiędzy *H. polygyrus corsicum*, gatunkiem występującym u myszy *Mus musculus* na Korsyce i myszy z rodzaju *Apodemus* w Azji Mniejszej, a *H. bakeri*, co może świadczyć, że te dwa taksony są jednym gatunkiem. Jeśli udałoby się wykazać, że *H. polygyrus corsicum* i *H. bakeri* tworzą wspólny kład wewnętrzny w obrębie *H. polygyrus*, to można by przypuszczać, że jest to ten sam gatunek. Z drugiej strony jeśli te organizmy reprezentowałyby odległe (terminalne) klady, to należałoby rozważyć opcję odrębności gatunkowej. Ponadto analiza filogenetyczna zaprezentowana w pracy Nieberding i wsp. (2008) ujawniła dodatkowy kład *H. polygyrus* (klad IV w w/w pracy), który był ulokowany poza głównym kładem dla tego gatunku i obejmował głównie sekwencje pozyskane z nicieni wyizolowanych od myszy polnej z terenu Polski i Rosji. W rozumieniu autorów miał być to dowód na istnienie północnego polodowcowego refugium dla *H. polygyrus* zlokalizowanego w Europie środkowej. W naszym odczuciu ten kład był dobrym punktem wyjścia do testowania hipotezy, że *H. polygyrus* i *H. bakeri* stanowią ten sam gatunek. Dodatkowo, uzyskane przez nas wyniki wykazały, że

u myszy polnej występuje odrębny gatunek – *H. neopolygyrus*, znany wcześniej jedynie z dalekiej Azji. Obecność tego gatunku u *A. agrarius* rzuca nie tylko nowe światło na ewolucję rodzaju *Heligmosomoides*, ale także stanowi kolejny przykład zawleczenia pasożytów przez mysz polną podczas jej zachodniej migracji.

Z myszą polną jest też związany kolejny gatunek nicienia – *Heterakis spumosa*. W oparciu o dane literaturowe przyjmuje się, że jest on typowym pasożytem szczurów (*Rattus* spp.) oraz myszy domowej (*Mus musculus*). Istnieją jednak sporadyczne stwierdzenia tego nicienia u innych żywicieli, tj. myszy polnej (*A. agrarius*), myszy zaroślowej (*A. sylvaticus*) oraz myszy leśnej (*A. flavicollis*). Uwzględniając specyfikę układu pasożyt-żywiciel, a w szczególności jedną z jego właściwości, jaką jest specyficzność żywicielska, można przypuszczać, że stwierdzenie *H. spumosa* u innego żywiciela niż szczur lub mysz domowa może świadczyć o istnieniu nowego układu pasożyt-żywiciel albo o obecności innego gatunku o zbliżonej morfologii, tzw. gatunku kryptycznego. Celem naszych badań była molekularna weryfikacja statusu taksonomicznego nicienia z rodzaju *Heterakis* pozyskanych z trzech różnych żywicieli, tj. myszy polnej, myszy leśnej oraz szczura wędrownego. Zebrany materiał pozwolił także na wyznaczenie podstawowych wskaźników parazytologicznych, tj. prewalencji oraz względnego zagęszczenia. Przyjmuje się, że najwyższe wartości oraz relatywną stabilność tych parametrów pasożyt uzyskuje u swojego typowego żywiciela podczas gdy u mniej specyficznych żywicieli te wartości są znacznie bardziej dynamiczne.

Ostatnim, ale równie ciekawym, przykładem jest występowanie przywr *Isthmiophora melis* u myszy polnej. Przedstawiciele podrodziny Echinostomatinae mają rozmieszczenie kosmopolityczne i pasożytują u wielu stałocieplnych gatunków kręgowców. Klasyfikacja w obrębie tej grupy nie jest prosta i momentami dość kontrowersyjna. W przypadku tych pasożytów specyficzność żywicielska przyjmuje raczej niskie wartości, co ma odzwierciedlenie w szerokim spektrum żywicielskim. Częste błędne oznaczenia są więc wynikiem dużej zmienności morfologicznej oraz braku danych molekularnych, które pozwalałyby na prawidłową weryfikację gatunkową. Podczas naszych wieloletnich badań nad helmintofauną gryzoni znaleźliśmy przywry z rodziny Echinostomatidae, których morfologia uprawniała do opisanie nowego rodzaju i gatunku. Natomiast analiza molekularna jednoznacznie określiła przynależność tych przywr do gatunku *Isthmiophora melis*.

Opierając się na wyżej wymienionych przykładach chciałem pokazać, że pomimo intensywnych badań nad pasożytami gryzoni nadal nie znamy pełnego zróżnicowania

gatunkowego helmintów występujących u tej grupy żywicieli. W głównej mierze starałem się odpowiedzieć na pytania: jakie czynniki mogą warunkować powstawanie układów pasożyt-żywciciel oraz jak przebiegała ewolucja wybranych gatunków helmintów występujących u gryzoni. Cel główny był realizowany poprzez następujące cele szczegółowe: **(1)** określenie przynależności systematycznej i zróżnicowania tasiemców z rodzaju *Mesocestoides* pasożytujących u gryzoni, które pełnią rolę drugiego żywiciela pośredniego; **(2)** filogeneza i molekularna weryfikacja taksonomiczna przywr z rodzaju *Collyricloides* pasożytujących u gryzoni i ptaków, połączona z analizą ekologicznych uwarunkowań funkcjonowania tego układu w kontekście dostępności żywicieli pośrednich i zdolności migracyjnych żywicieli; **(3)** weryfikacja hipotezy o północnych refugiach dla nicieni z rodzaju *Heligmosomoides* w Europie środkowej; **(4)** molekularna i ekologiczna analiza występowania nicienia *Heterakis spumosa* u trzech różnych gatunków żywicieli; **(5)** analiza morfologiczna i molekularna przywr z rodzaju *Isthmiophora* występujących u myszy polnej.

**(1)** Zaleśny G., Hildebrand J. 2012. **Molecular identification of *Mesocestoides* spp. from intermediate hosts (rodents) in central Europe (Poland).** *Parasitology Research* 110: 1055-1061.

Badania przeprowadzono na larwach pozyskanych od dwóch gatunków żywicieli, tj. myszy polnej (*A. agrarius*) i nornicy rudej (*Myodes glareolus*) pochodzących z trzech różnych stanowisk (zarówno zurbanizowanych jak i naturalnych). Analizy molekularne wykonano z zastosowaniem dwóch markerów, jądrowego 18S rDNA oraz mitochondrialnego 12S rDNA. Wyniki naszych badań korespondowały z ustaleniami wynikającymi z pracy Hrcckovej i wsp. (2011) i w przypadku genu 18S rDNA nasze izolaty były w 100% zgodne z sekwencjami zdeponowanymi w Gen Banku dla *M. litteratus* z Czech, Słowacji i Hiszpanii. W przypadku genu 12S mtDNA uzyskane sekwencje były w 99% zgodne z sekwencjami *M. lineatus* z lisa z Niemiec i tetraterydium wyizolowanym od psa również w Niemczech. Jednocześnie nasze sekwencje były w 98% zgodne z sekwencjami *M. litteratus* pochodzącymi od lisów z Czech, Słowacji i Hiszpanii (Hrcckova i wsp. 2011) i wykazywały 68% podobieństwo do sekwencji *M. lineatus* pochodzących od wyżej wymienionych drapieżników. Nasze badania – pierwsze dotyczące tak kompleksowej analizy taksonomicznej form larwalnych tasiemców z rodzaju *Mesocestoides* -

potwierdzają, że kontynent europejski jest zdominowany przez *M. litteratus* również na poziomie drugiego żywiciela pośredniego, a wcześniejsze stwierdzenia *M. lineatus* najprawdopodobniej są wynikiem błędnej identyfikacji. Oprócz tego nasze badania wykazały, że *M. lineatus* i *M. leptothylacus*, których sekwencje zostały zdeponowane w Gen Bank, były błędnie zidentyfikowane i korzystanie z tych sekwencji może wprowadzać kolejnych badaczy w błąd.

**(2) Kanarek G., Zalesny G., Czujkowska A., Sitko J., Harris PD. 2015. On the systematic position of *Collyricloides massanae* Vaucher, 1969 (Platyhelminthes: Digenea) with notes on distribution of this trematode species. *Parasitology Research* 114: 1495-1501.**

Badania przeprowadzono w oparciu o materiał pozyskany z trzech żywicieli: strzyżyka *Troglodytes troglodytes*, rudzika *Erithacus rubecula* oraz nornicy rudej *Myodes glareolus*. Wszystkie sekwencje 28S rDNA uzyskane z przywr pochodzących od analizowanych żywicieli były identyczne. W celu sprawdzenia zmienności wewnątrzrodzajowej zsekwencjonowano także fragmenty ITS-1 oraz ITS-2 rDNA i w tym przypadku również nie stwierdzono żadnych różnic. Natomiast analiza filogenetyczna wykazała przynależność rodzaju *Collyricloides* do rodziny Pleurogenidae w nadrodzinie Microphalloidea. W związku z tym powszechne przekonanie o ścisłym pokrewieństwie rodzajów *Collyriclum* i *Collyricloides* zostało odrzucone. Z drugiej strony *Collyricloides* wykazuje dużą odrębność morfologiczną od innych przedstawicieli rodziny Pleurogenidae, dlatego też konwergencja prowadząca do podobieństwa morfologicznego w stosunku do *Collyriclum* powodowała, że przez wiele lat oba rodzaje umieszczano w tej samej rodzinie. Kolejną interesującą kwestią jest rozmieszczenie geograficzne *Collyricloides massanae* i jego specyficzność żywicielska. Gatunek ten był notowany wielokrotnie na kontynencie europejskim zarówno u gryzoni (Jourdane i Triquell 1973; Mas-Coma i Feliu 1977; Schwarz 1981; Ribas i wsp. 2005) jak i u ptaków wróblowych (Borgsteede i Smit 1980; Schwarz 1981; Sitko i wsp. 2006; Okulewicz i wsp. 2010). Natomiast *Collyriclum faba* był stwierdzony u szerokiego spektrum ptaków (nie tylko Passeriformes, ale także Anseriformes, Galliformes, Charadriiformes, Coraciiformes czy Piciformes) w Europie, Azji i Ameryce (Literak i Sitko 2006; Heneberg i wsp. 2011; Literak i wsp. 2011). Interesujące jest to, że wszystkie dotychczasowe stwierdzenia *Collyricloides massanae* u gryzoni pochodziły

z górskich rejonów środkowej (Schwarzwald) i południowej (Pireneje) Europy podczas gdy stwierdzenia u ptaków pochodzą głównie z Europy północnej. Biorąc pod uwagę potencjał migracyjny ptaków (żywicielami były głównie szpaki, kosy czy kowaliki, a więc ptaki migrujące na średnich i krótkich dystansach) i gryzoni (migracja ograniczona do kilkuset metrów kwadratowych) wydaje się, że cykl rozwojowy *Collyricloides massanae* jest związany z warunkami ekologicznymi panującymi w górach środkowej i południowej Europy. Natomiast notowanie tej przywry u ptaków w Europie północnej miało raczej związek ze zdolnościami migracyjnymi tej grupy żywicieli i najprawdopodobniej jest wynikiem zawleczenia pasożytów z południa Europy. Tym samym Mazury, gdzie odnotowano *Collyricloides massanae* u nornicy rudej, są najdalej wysuniętym na północ miejscem występowania tego pasożyta u gryzoni. Według Schwarza (1981) pierwszym żywicielem pośrednim *Collyricloides massanae* jest ślimak *Bythinella dunkeri* natomiast rolę drugiego żywiciela pośredniego pełnią owady związane z ekosystemami wodnymi (głównie strumieniami), tj. Ephemeroptera, Plecoptera i Trichoptera. Przedstawiciele rodzaju *Bythinella* Moquin-Tandon, 1856 występują od półwyspu Iberyjskiego po zachodnią Azję w wartkich, chłodnych i dobrze natlenionych strumieniach oraz w źródłach [dodałam Ci źródła, bo one głównie tam siedzą]. Wydaje się, że Pojezierze Mazurskie nie jest dla nich odpowiednim siedliskiem, tym bardziej, że jedyne stwierdzenia *Bythinella* w Polsce pochodzą z południa kraju (Falniowski, 1987). Jednak dane literaturowe sugerują, że te ślimaki są stosunkowo odporne na wysychanie i potrafią przez pewien czas funkcjonować w środowisku lądowym (Falniowski, 1987; Falniowski i wsp. 1998); nieliczne, izolowane populacje *Bythinella* mogą występować na Mazurach.

(3) Zaleśny G., Hildebrand J., Paziewska-Harris A., Behnke JM., Harris PD. 2014. ***Heligmosomoides neopolygyrus* Asakawa & Ohbayashi 1986 a cryptic Asian nematode infecting the striped field mouse *Apodemus agrarius* in Central Europe.** *Parasites & Vectors* 7: 457

Harris PD., Zaleśny G., Hildebrand J., Paziewska-Harris A., Behnke JM., Tkach VV., Hwang YT., Kinsela JM. 2015. **The Status of *Heligmosomoides americanus*, Representative of an American Clade of Vole-Infecting Nematodes.** *Journal of Parasitology* 101: 382-385.

Minimalne różnicowanie morfologiczne pomiędzy *H. polygyrus* i *H. neopolygyrus* spowodowało, że przez wiele lat uważano *H. polygyrus* za gatunek wspólny dla *Apodemus agrarius* i *A. flavicollis*. Jednakże analiza molekularna oparta na dwóch markerach mtDNA (COI i cyt b) oraz czterech rDNA (28S, ITS-1, 5,8S i ITS-2) jednoznacznie wykazała, że nicienie pozyskane z *A. agrarius* nie są tożsame z *H. polygyrus*. *H. neopolygyrus* nie jest nawet kladem siostrzanym dla *H. polygyrus* i grupuje się z rodzajem *Heligmosomum* (z gatunkami *H. mixtum* i *H. costellatum*). Ponadto, sekwencje cyt b uzyskane dla nicieni z *A. agrarius* są niemal identyczne z sekwencjami uzyskanymi przez Nieberding i wsp. (2008) pochodzącymi również od myszy polnej, a opisanymi w GenBank jako *H. polygyrus* oraz do sekwencji nicieni pozyskanych z *A. uralensis* z okolic Nowosybirsk, co wskazuje na bardzo szeroki zasięg *H. neopolygyrus* sięgający od Europy środkowej do Azji. Naturalny zasięg występowania myszy polnej jest nieciągły, rozdzielony przez wyżynę tybetańską. W związku z tym, najprawdopodobniej *H. neopolygyrus* z wysp japońskich byłby odległy genetycznie od tych pozyskanych z Europy środkowej i „forma zachodnia” tego nicienia powinna zostać opisana jako nowy gatunek.

W oparciu o badania morfologiczne istnieje powszechne przekonanie, że: (1) *H. neopolygyrus* i *H. polygyrus* tworzą siostrzane klady terminalne; (2) gatunki z rodzaju *Heligmosomoides* pasożytujące u przedstawicieli *Apodemus* wywodzą się od form pasożytujących u nornikowatych; (3) cienka i zwinięta forma ciała przedstawicieli *Heligmosomoides* jest wtórna w stosunku do krępej i prostej formy typowej dla rodzaju *Heligmosomum*. Naszym jednak zdaniem hipoteza, że *Heligmosomoides* pasożytujący u *Apodemus* jest bardziej pierwotny w stosunku do tych pasożytujących u nornikowatych wymaga rozpatrzenia jako bardziej oszczędna. Po pierwsze, rodzaj *Apodemus* jest jednym z najstarszych rodzajów w obrębie Muridae (datowany na ok. 10 milionów lat temu),

natomiast przedstawiciele Cricetidae są zdecydowanie młodsi i tak np. specjacja rodzajów *Myodes* i *Microtus* (najczęstszych żywicieli dla rodzajów *Heligmosomoides*/*Heligmosomum*) jest datowana na 2-3 miliony lat temu. Wschodnioazjatycki podrodzaj *Apodemus* (*A. agrarius*, *A. peninsulae*, *A. draco*) oddzielił się od podrodzaju *Sylvaemus* (*A. flavicollis*, *A. sylvaticus*, *A. microps*, *A. mystacinus*) około 8 milionów lat temu. Stąd też wydaje się, że *H. polygyrus* jest typowy dla myszy z podrodzaju *Sylvaemus* a *H. neopolygyrus* dla wschodnioazjatyckiego podrodzaju *Apodemus* i oba te gatunki są odrębnymi liniami ewolucyjnymi od ok. 8 milionów lat. Natomiast zachodnia migracja *A. agrarius* jest bardzo niedawnym wydarzeniem ewolucyjnym. Przyjmuje się, że ten gatunek wyginął na kontynencie europejskim podczas ostatniego zlodowacenia i rekolonizował Europę w ciągu ostatnich paru tysięcy lat. Najmłodsze dane kopalne pochodzące z Polski są datowane na około 1000 lat a datowanie transmisji hantawirusa Saarema z *A. flavicollis* na *A. agrarius* to również ok. 1000 lat temu. Stąd też kład 4, który w pracy Nieberding i wsp. (2008) miał przedstawiać dowód na istnienie północnoeuropejskiego refugium jest raczej kładem reprezentującym gatunek, który pojawił się w Europie już po ostatnim zlodowaceniu. Z kolei obecność rodzaju *Heligmosomoides* w kładzie *Heligmosomum* może sugerować, że forma spiralnie skręcona jest wtórną w stosunku do formy krępej i prostej.

W drugiej pracy dotyczącej nicieni z rodzaju *Heligmosomoides* (Harris i wsp. 2015) wykazaliśmy, że *H. americanus* jest odrębnym gatunkiem (typowym dla kontynentu amerykańskiego) a nie jak wcześniej przypuszczano częścią kompleksu *H. polygyrus*. Ponadto wyniki tych badań mogą również przyczynić się do weryfikacji hipotezy o pochodzeniu rodzaju *Heligmosomoides*. Żywicielem dla *H. americanus* jest *Phenacomys intermedius*, który stanowi jedną z najstarszych linii ewolucyjnych nornikowatych datowaną na początek Pliocenu (ok. 5 milionów lat temu) a radiacja w Ameryce Północnej nastąpiła około 2 milionów lat temu (Repenning i wsp. 1987). W pracy dotyczącej *H. neopolygyrus* (Zaleśny i wsp. 2015) sugerowaliśmy, że rozejście pomiędzy *H. polygyrus* i *H. neopolygyrus* (najstarszymi formami pasożytującymi u przedstawicieli myszowatych) nastąpiło 6-8 milionów lat temu, co znacznie poprzedza radiację nornikowatych. Długie gałęzie pomiędzy *H. americanus* a pozostałymi przedstawicielami tego rodzaju widoczne w analizie filogenetycznej sugerują, że ten gatunek reprezentuje wczesną kolonizację nornikowatych i ma długą niezależną historię na kontynencie amerykańskim. Jest to zgodne z danymi Repenninga i wsp. (1987). Ponadto, rodzaj *Phenacomys* w Ameryce Północnej tworzy dwie izolowane populacje (Chavez i Kenagy,



2010) z rozdziałem datowanym na 1,5 miliona lat temu. Nasze badania były oparte na materiale pochodzącym z Kolumbii Brytyjskiej (Kanada) i Montany (USA). Z tego samego rejonu (Montana) pochodziły osobniki *H. americanus* (paratypy) użyte do oryginalnego opisu gatunku (Durette-Desset i wsp. 1972), natomiast holotyp był zebrany z południowej populacji żywiciela (Waszyngton). Występowanie tego samego gatunku pasożyta w dwóch izolowanych populacjach można wytłumaczyć fragmentacją pierwotnego zasięgu, co również wskazuje na długą i niezależną historię ewolucyjną *H. americanus* w Ameryce Północnej.

**(4) Zaleśny G., Hildebrand J., Popiołek M. 2010. Molecular identification of *Heterakis spumosa* Schneider, 1866 (Nematoda; Ascaridida, Heterakidae) within the muroid hosts: *Rattus norvegicus*, *Apodemus agrarius* and *A. flavicollis* with comparative analysis of its occurrence in two mice species. *Annales Zoologici* 60(4): 647-655.**

Badania molekularne wykazały 100% zbieżność w analizowanym fragmencie 873 bp genu 18S rDNA. Taki wynik wskazuje, że wszystkie trzy analizowane taksony należą do tego samego gatunku. W przypadku badań ekologicznych stwierdzono prawie trzykrotnie wyższą prewalencję u myszy polnej (72,7%) niż u myszy leśnej (21,9%). Najwyższą wartość (81,7%) zaobserwowano u myszy polnej ze stanowiska Wrocław-Rędzin, a najniższą (19,0%) u myszy leśnej na tym samym stanowisku. Współczynnik rozbieżności (określający poziom agregacji) osiągał wyższą wartość dla myszy leśnej ( $D=0,855$ ) niż dla myszy polnej ( $D=0,678$ ).

W literaturze europejskiej *H. spumosa* był już wcześniej stwierdzany u *A. agrarius* (Genov, 1984; Simalov, 2002; Ondrikova i Stanko, 2002), natomiast obecność tego pasożyta u myszy leśnej została wykazana po raz pierwszy. Opierając się na danych literaturowych można przypuszczać, że *A. flavicollis* jest nowym żywicielem dla tego pasożyta, a jego typowymi żywicielami są *A. agrarius* i *Rattus* spp. Biorąc pod uwagę, że centrum specjacji i ewolucji myszy polnej i szczura znajduje się w Azji (podczas gdy gatunki z podrodzaju *Apodemus* (*Sylvaemus*), w tym *A. flavicollis*, mają swój początek w Europie zachodniej) najprawdopodobniej *H. spumosa* pozyskał nowego żywiciela (mysz polną) już na początku specjacji i dlatego jest dość powszechnie notowany u tego gatunku, a układ pomiędzy *H. spumosa* i *A. flavicollis* jest ewolucyjnie młody. Taki scenariusz ma także odzwierciedlenie w analizie wskaźników parazytologicznych takich jak prewalencja i poziom agregacji. Niższy

poziom zarażenia i silnie skupiskowy charakter występowania wskazują, że *H. spumosa* nie stanowi stałego składnika helmintofauny myszy leśnej.

**(5) Hildebrand J., Adamczyk M., Laskowski Z., Zaleśny G. 2015. Host-dependent morphology of *Isthmiophora melis* (Schrank, 1788) Luhe, 1909 (Digenea, Echinostomatinae) - morphological variation vs. molecular stability. *Parasites & Vectors* 8:**

Do analiz morfologicznych posłużyło 148 osobników przywr pozyskanych od 4 różnych żywicieli (mysz polna = 37, borsuk = 13, wizon amerykański = 64, jeż europejski = 34), natomiast do analiz molekularnych wykorzystano 8 osobników (po dwa z każdego gatunku żywicielskiego), dla których zsekwencjonowano 3 markery (ITS-1 i ITS-2 rDNA oraz COI mtDNA). Dla przywr wyizolowanych z myszy polnej przeanalizowano jeszcze dwa kolejne markery, 18S i 28S rDNA.

Wyniki badań molekularnych przywr pozyskanych od myszy polnej wskazały na jednoznaczne i 100% zaklasyfikowanie do gatunku *Isthmiophora melis*. Natomiast analiza dyskryminacyjna cech morfometrycznych wykazała, że te przywry różnią się istotnie od pozostałych osobników *I. melis* pochodzących od 3 pozostałych gatunków żywicieli. Głównymi cechami różnicującymi w obrębie rodzaju *Isthmiophora* są: proporcja długości rejonu postjądrowego do całkowitej długości ciała (30-50%), krótki przedni odcinek ciała, tzw. forebody (FO=10-20%), obecność uzbrojonego cirrusa, krótka macica i relatywnie duże jaja. Cykl życiowy *Isthmiophora* spp. obejmuje ślimaki wodne (*Lymnea* spp.), kijanki i ryby jako drugiego żywiciela pośredniego oraz różne gatunki zwierząt drapieżnych jako żywicieli ostatecznych. Osobniki *I. melis* pozyskane od myszy polnej z rezerwatu „Stawy Milickie” bardzo mocno odbiegają od w/w cech kluczowych dla tego gatunku a nawet rodzaju. Ponadto ostatnie badania Radeva i wsp. (2009) wykazały, że po eksperymentalnym zarażeniu chomików tymi przywrami izolowane osobniki w dalszym ciągu mieściły się w zakresie zmienności cech. To wskazuje, że obserwowana zmienność wewnątrzgatunkowa jest najprawdopodobniej indukowana żywicielem (tzw. „host-induced phenotypic variation”). Najczęściej spotykanym przykładem tego zjawiska jest efekt przegęszczenia („crowding effect”), gdzie w wyniku masowej inwazji pasożyty nie mogą osiągnąć typowych dla siebie rozmiarów ciała. W naszych badaniach brany był pod uwagę jeszcze jeden czynnik,

a mianowicie długość życia żywiciela. Dla *A. agrarius* wynosi ona mniej więcej od kilku miesięcy do roku podczas gdy czas życia borsuka (typowego żywiciela dla tego pasożyta) jest szacowany na kilkanaście lat. Co istotne, w przypadku przywr wzrost ciała jest inicjowany na wczesnym etapie rozwoju. W momencie, gdy gonady są już prawidłowo rozwinięte dochodzi do zatrzymania ich wzrostu, natomiast ciało przywry rośnie dalej. Nasze wyniki odzwierciedlają tę prawidłowość i najwyższą wartość stosunku pola powierzchni gonad do długości ciała odnotowano właśnie u żywiciela charakteryzującego się najkrótszym czasem życia, czyli *A. agrarius*, co wskazuje na zatrzymanie wzrostu ciała zaraz po pełnym rozwinięciu się gonad.

Podsumowując, uzyskane wyniki, które zostały przedstawione w osiągnięciu, uzupełniają dotychczasową wiedzę na temat taksonomii i ewolucji helmintów pasożytujących u gryzoni oraz dostarczają nowych danych na temat funkcjonowania wybranych układów pasożyt-żywiciel, a w szczególności:

- wykazano, że u gryzoni dominującym gatunkiem tasiemca z rodzaju *Mesocestoides* jest *M. litteratus* a nie jak wcześniej sugerowano *M. linneatus*; dodatkowo nasze wyniki pozwoliły na weryfikację wcześniej zdeponowanych w GenBank sekwencji tasiemców z rodzaju *Mesocestoides*;
- zweryfikowano pozycję systematyczną przywr *Collyricloides massanae*; gatunek ten został przeniesiony do rodziny Pleurogenidae i potwierdzono jego odrębność gatunkową w stosunku do *Collyriclum faba*, a zbieżność fenotypowa i siedliskowa jest wynikiem ewolucji konwergentnej obu taksonów;
- wykazano, że u myszy z rodzaju *Apodemus* (*A. agrarius* i *A. flavicollis*) występuje nicien *Heterakis spumosa*. Analiza molekularna wykazała brak zróżnicowania genetycznego wśród osobników pochodzących od trzech gatunków żywicielskich (szczur, mysz polna i mysz leśna), natomiast analiza ekologiczna sugeruje, że *A. flavicollis* jest stosunkowo nowym żywicielem dla tego pasożyta;
- stwierdzono występowanie nicienia *Heligmosomoides neopolygyrus* u myszy polnej; te wyniki stoją w sprzeczności z dotychczasowym poglądem, w myśl którego u myszy polnej występuje *H. polygyrus*, a jego odrębność genetyczna tłumaczona jest istnieniem północnego refugium podczas ostatniego zlodowacenia;
- wykazano, że nicien *Heligmosomoides americanus* jest przedstawicielem linii ewolucyjnej typowej dla fauny amerykańskiej, a nie jak wcześniej sądzono, podgatunkiem w obrębie *H. polygyrus*;

- wykazano, że u myszy polnej występuje przywra *Isthmiophora melis*; jej silna odrębność morfologiczna jest wynikiem wpływu żywiciela a wykazana odrębność morfometryczna poddaje pod dyskusję zasadność niektórych cech traktowanych jako różnicujące w identyfikacji taksonów;

### **Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych**

#### *Praca naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora (2004-2010)*

Od początku mojej kariery naukowej w kręgu moich zainteresowań znajdowały się helminty dziko żyjących i laboratoryjnych gryzoni. Będąc jeszcze studentem aktywnie uczestniczyłem w pracach Zakładu Parazytologii UW. W tamtym czasie tematyka naukowa Zakładu koncentrowała się na ekologicznych uwarunkowaniach helmintofauny gryzoni terenów zurbanizowanych oraz immunologicznych aspektach inwazji nicieni jelitowych u myszy laboratoryjnych. W latach 2005 – 2010 będąc doktorantem realizowałem temat swojej rozprawy dotyczącej taksonomii i ekologii nicieni z rodzaju *Syphacia* pasożytujących u gryzoni oraz wspólnie z dr Joanną Hildebrand zajmowaliśmy się faunistyką i środowiskowymi czynnikami kształtującymi helmintofaunę gryzoni. W początkowych latach naszej działalności koncentrowaliśmy się na badaniach faunistycznych i ekologicznych. W naszych badaniach wykazaliśmy szereg nowych dla fauny polski gatunków pasożytniczych helmintów (m.in. Hildebrand i wsp. 2004, 2007; Zaleśny i wsp. 2006, 2008). Badania faunistyczne były uzupełniane o kolejne aspekty, m.in. po raz pierwszy w Polsce wykazaliśmy, że gryzonie z terenów zurbanizowanych, pełniąc rolę żywicieli paratenicznych, biorą udział w rozprzestrzenianiu pasożytów o znaczeniu zoonotycznym takich jak *Toxocara* (Hildebrand i wsp. 2009).

#### *Praca naukowa po uzyskaniu stopnia doktora*

Po obronie pracy doktorskiej zostałem zatrudniony, jako specjalista, na etacie naukowo-technicznym w Zakładzie Parazytologii. Był to okres wdrażania się w nowe techniki badawcze i organizowania pracowni biologii molekularnej w Zakładzie; kontynuowałem również badania nad helmintofauną gryzoni. W kwietniu 2011 roku zostałem zatrudniony na stanowisku asystenta w Zakładzie Systematyki i Ekologii Bezkręgowców Uniwersytetu

Przyrodniczego we Wrocławiu. Zmiana miejsca pracy i przejście na Uczelnię o profilu zootechniczno-weterynaryjnym spowodowało, że w moim dorobku naukowym pojawiły się prace z zakresu chorób inwazyjnych zwierząt gospodarskich oraz detekcji wektorowych pasożytów o znaczeniu medyczo-weterynaryjnym. Wraz z pracownikami Zakładu Hodowli Trzody Chlewnej podjęliśmy badania nad wpływem inwazji pasożytniczych na parametry jakościowe i ilościowe produkcji zwierzęcej. Ciekawe wyniki uzyskaliśmy w kontekście wpływu zarażenia świń nicieniami żołądkowo-jelitowymi na mięsność. Tuczniaki o wyższym EPG charakteryzowały się zdecydowanie niższym wskaźnikiem mięsności a co za tym idzie wyższymi kosztami utrzymania przy jednoczesnym niższym przyroście i gorszej klasie mięsa. Ponadto wyniki naszych badań wykazały, że system utrzymania świń ma duże znaczenie w ograniczeniu występowania inwazji pasożytniczych u tych zwierząt (Knecht i wsp. 2011, 2012). Jestem również współautorem metodologicznej publikacji, której celem było wskazanie najbardziej efektywnej metody konserwacji próbek kałowych koni, która nie będzie fałszować (zaniżać) wartości EPG (Jagła i wsp. 2013).

Współpraca z koleżankami z Instytutu Parazytologii Słowackiej Akademii Nauk i Uniwersytetu Weterynaryjnego w Koszycach związana była z detekcją nicieni z rodzaju *Dirofilaria* u dziko żyjących zwierząt na terytorium Słowacji. Za pomocą metod biologii molekularnej udało się nam wykazać obecność *D. repens* u kuny leśnej odłowionej w Tatrach Wysokich. Taka lokalizacja i żywiciel jednoznacznie potwierdzają autochtoniczne zarażenie, równocześnie wskazując, że ognisk dirofilariozy należy poszukiwać nie tylko u zwierząt udomowionych (Miterpakova i wsp. 2013). Rezerwuarowa rola dziko żyjących drapieżników została dodatkowo potwierdzona w badaniach lisów w kierunku obecności nicieni z rodzaju *Dirofilaria*. Wykazaliśmy, że w północnej i południowo-wschodniej Słowacji dirofilarioza występuje u tego żywiciela powszechnie a w pewnych rejonach kraju prewalencja przekraczała 60%. Ze względu na piękno przyrody i liczne parki narodowe, północna Słowacja jest jednym z głównych miejsc rekreacyjnych w kraju, można zatem przypuszczać, że w tym rejonie dzikie drapieżniki są jednym z głównych rezerwuarów tej groźnej choroby psów (Hurnikova i wsp. 2015).

W kręgu moich zainteresowań znalazły się również mikropasożyty gryzoni. W 2011 roku, we współpracy z dr Joanną Hildebrand, zajęliśmy się detekcją pasożytów krwi u tej grupy żywicielskiej. W naszych badaniach stwierdzaliśmy typowe patogeny rekrutujące się głównie z rodzajów *Babesia* i *Bartonella*, jednak bardziej szczegółowe analizy wykazały bardzo ciekawe

spektrum gatunków *Bartonella* u myszy polnej. Oprócz typowych gatunków, takich jak *B. grahamii*, *B. taylori* czy *B. birtlesii*, występujących u gryzoni z rodzaju *Apodemus* w Europie, stwierdziliśmy obecność *B. elizabethae* i rekombinowanych szczepów *B. taylori*, które są blisko spokrewnione z amerykańskimi izolatami *Bartonella* (Hildebrand i wsp. 2013). Natomiast dzięki coraz częstszym kontaktom z pracownikami Instytutu Parazytologii Słowackiej Akademii Nauk miałem możliwość uczestniczenia w pracach zespołu prof. Katariny Reiterovej oraz dr Danieli Antolovej. Badania prowadzone przez tą grupę koncentrowały się wokół rezerwuarowej roli gryzoni w krążeniu toksokarozy. Efektem naszej współpracy były dwie prace wykazujące, że ta grupa żywicieli nie powinna być marginalizowana w trakcie rozważań nad krążeniem nicieni z rodzaju *Toxocara*. Główną rolę w rozprzestrzenianiu nicieni z tego rodzaju pełnią *A. agrarius* oraz *M. spicilegus*, u których odnotowano prewalencję wynoszącą odpowiednio 11,7% oraz 10,7% (Antolova i wsp. 2013; Reiterova i wsp. 2013).

W 2011 roku rozpocząłem współpracę z dr Gerardem Kanarkiem z Muzeum i Instytutu Zoologii PAN oraz dr Jiljim Sitko ze Stacji Ornitologicznej w Prerove (Czeska Republika). Nasze badania związane są z taksonomią i ekologią helmintów ptaków dziko żyjących. Efektem naszych badań jest 7 prac opublikowanych w czasopismach wyróżnionych w JCR, które dotyczą rewizji taksonomicznych nicieni z rodziny Syngamidae, przywr z nadrodziny Microphalloidea oraz ekologicznych uwarunkowań wpływających na helmintofaunę kormoranów (*Phalacrocorax carbo*) i wpływu urbanizacji na kształtowanie się helmintofauny u kosa (*Turdus merula*) (Kanarek i wsp. 2013, 2014, 2015, 2016a. b; Kanarek i Zaleśny 2014; Sitko i Zaleśny 2014).

#### *Podsumowanie dorobku naukowego*

Mój dorobek naukowy obejmuje łącznie **46** publikacji, w tym **31** prac w czasopismach wyróżnionych w *Journal Citation Reports*. Sumaryczny 5-letni IF (według listy zgodnej z rokiem opublikowania) wynosi **51,042**; liczba punktów MNiSW (według listy zgodnej z rokiem opublikowania) wynosi **786**. Ponadto jestem autorem **36** doniesień konferencyjnych prezentowanych w kraju i zagranicą. Szczegółowe informacje dotyczące opublikowanych prac oraz udziału i roli w projektach naukowych są przedstawione w załączniku 3.

## Literatura:

1. Antolova D., Reiterova K., Stanko M., Zaleśny G., Fricova J., Dvoroznakova E. 2013. Small mammals: paratenic hosts for species of *Toxocara* in Eastern Slovakia. *Journal of Helminthology*. 87: 52-58.
2. Bajer A., Behnke J.M., Pawelczyk A., Kulis K., Sereda M.J., Sinski E. 2005. Medium-term temporal stability of the helminth component community structure in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology*, 130 (2): 213-228.
3. Behnke J.M, Bajer A., Harris P.D, Newington L., Pidgeon E., Rowlanda G., Sheriff C., Kulis-Malkowska K., Siński E., Gilbert F.S., Barnard C.J. 2008a. Temporal and between-site variation in helminth communities of bank voles (*Myodes glareolus*) from N.E. Poland. 1. Regional fauna and component community levels. *Parasitology* 135: 985-997.
4. Behnke J.M, Bajer A., Harris P.D, Newington L., Pidgeon E., Rowlanda G., Sheriff C., Kulis-Malkowska K., Siński E., Gilbert F.S., Barnard C.J. 2008b. Temporal and between-site variation in helminth communities of bank voles (*Myodes glareolus*) from N.E. Poland. 2.The infracommunity level. *Parasitology*, 135: 999-1018.
5. Behnke J.M, Lewis J.W., Mohd Zain S.N., Gilbert F. S. 1999. Helminth infections in *Apodemus sylvaticus* in southern England: interactive effects of host age, sex and year on the prevalence and abundance of infections. *Journal of Helminthology*, 73: 31-44.
6. Behnke JM, Harris PD. 2010. *Heligmosomoides bakeri*: a new name for an old worm? *Trends in Parasitology*. 26:524-529.
7. Blair, D., Barton, D. P. 2008. Family Collyriclidae Ward, 1917. In: Bray, R. D., Gibson, D. I., Jones, A. Keys to the Trematoda volume 3. CAB International and Natural History Museum, London.
8. Bogdanowicz W. Chudzicka E., Pilipiuk I., Skibińska E. 2014. Fauna Polski t. IV. Kęgowce. Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa.
9. Borgsteede, F. H. M., Smit, T. H. 1980. *Collyricloides massanae* Vaucher, 1969, in a starling (*Sturnus vulgaris* L.) in the Netherlands. *Journal of Helminthology*. 54:93-95.
10. Chavez, A. S. and Kenagy, G. J. 2010. Historical biogeography of western heather voles (*Phenacomys intermedius*) in montane systems of the Pacific North West. *Journal of Mammalogy* 91: 874-885.
11. Dobson A., Lafferty K.D., Kuris A.M. et al. 2008. Homage to Linnaeus: how many parasites? How many hosts? *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 105:11482–11489.
12. Durette-Desset, M. C., Kinsella, J. M. and Forrester, D. J. 1972. Arguments en faveur de la double origine des Nématodes néarctiques du genre *Heligmosomoides* Hall, 1916. *Annales de Parasitologie* 47: 365-382.
13. Falniowski, A. 1987. Hydrobioidea of Poland (Prosobranchia: Gastropoda). *Folia Malacologica* 1:1-122.
14. Falniowski, A., Szarowska, M., Fiałkowski, W., Mazan, K. 1998. Unusual geographic pattern in interpopulation variation in a spring snail *Bythinella* (Gastropoda: Prosobranchia). *Journal of Natural History* 32; 605-616.
15. Freeland J. 2008. Molecular ecology. John Wiley and Sons, Ltd., West Sussex, England.
16. Genov, T. 1984. Helminths of insectivores mammals and rodents in Bulgaria. Publishing House of the Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, 348 pp. (In Bulgarian).
17. Gupta, S. E and K. K. Trivedi. 1982. Nematode parasites of vertebrates. VII. On two new species of the genus *Heterakis*, Dujardin 1945 (Heterakidae Railliet and Henry 1914), from mammals of Udaipur, Rajasthan, India. *Indian Journal of Helminthology*, 34: 29–35.
18. Heneberg, P., Literák, I. 2013. Molecular phylogenetic characterization of *Collyriclum faba* with reference to its three host-specific ecotypes. *Parasitology International* 62; 262-267.
19. Hildebrand J., Adamczyk M., Laskowski Z., Zaleśny G. 2015. Host-dependent morphology of *Isthmiophora melis* (Schrank, 1788) Luhe, 1909 (Digenea, Echinostomatinae) - morphological variation vs. molecular stability. *Parasites & Vectors* 8:481.

20. Hildebrand J., Okulewicz A., Zaleśny G., Perec-Matysiak A. 2008. Site-specific influence on the helminth community of small rodents in the Wrocław area (Poland). *Proceedings of 10th European Multicolloquium of Parasitology "From satellites to microsattelites"* 24-29 August 2008, Paris, France p. 233-236. ISBN: 978-88-7587-459-9, pp. 281.
21. Hildebrand J., Paziewska-Harris A., Zaleśny G., Harris P.D. 2013. PCR characterisation suggests an unusual range of *Bartonella* species infect the striped field mouse *Apodemus agrarius* in Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology* 79: 5082-5084
22. Hildebrand J., Popiołek M., Okulewicz A., Zaleśny G. 2004. Helminthofauna myszy z rodzaju *Apodemus* z okolic Wrocławia. *Wiadomości Parazytologiczne* 50: 623-628.
23. Hildebrand J., Zaleśny G. 2009. Siedliskowa i żywicielska specyficzność występowania przywr w zgrupowaniach gryzoni. *Wiadomości Parazytologiczne* 55: 389-393.
24. Hildebrand J., Zaleśny G., Okulewicz A. 2007. A new whipworm from arvicolid rodents, *Trichuris arvicolae* Feliu et al. 2000, in the helminth fauna of Poland. *Wiadomości Parazytologiczne* 53: 339-341.
25. Hildebrand J., Zaleśny G., Okulewicz A., Baszkiewicz K. 2009. Preliminary studies on zoonotic importance of rodents as a reservoir of toxocarasis from recreation grounds of Wrocław (Poland). *Helminthologia* 46: 80-84.
26. Hrčková G, Miterpáková M, O'Connor A, Snábel V, Olson PD (2011) Molecular and morphological circumscription of *Mesocestoides* tapeworms from red foxes (*Vulpes vulpes*) in central Europe. *Parasitology* 138:638-647.
27. Hung, G.C., Chilton, N.B., Beveridge, I., Zhu, X.Q., Lichtenfels, J.R., Gasser, R.B., 1999. Molecular evidence for cryptic species within *Cylicostephanus minutus* (Nematoda: Strongylidae). *International Journal of Parasitology*. 29, 285–291.
28. Hurnikova Z., Miterpakova M., Zaleśny G. 2015. Epidemiological coherency of vulpine dirofilariosis in environmental conditions of Slovakia. *Helminthologia* 52: 11-16.
29. Huysse T., Poulin R., Theron A. 2005. Speciation in parasites: a population genetics approach. *Trends in Parasitology*, 21:469–475.
30. Jagła E., Śpiewak J., Zaleśny G., Popiołek M. 2013. The effect of storage and preservation of horse faecal samples on the detectability and viability of strongylid nematode eggs and larvae. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 57: 161-165
31. Jourdane, J., Triquell, A. 1973. Digènes parasites d'*Apodemus sylvaticus* (L.) dans la partie orientale des Pyrénées. Description de *Macyella apodemi* sp. n. *Bulletin du Museum Nationale d'Histoire Naturelle* 117; 351-361.
32. Jousson, O., Bartoli, P., Pawlowski, J., 2000. Cryptic speciation among intestinal parasites (Trematoda: Digenea) infecting sympatric host fishes (Sparidae). *Journal of Evolutionary Biology* 13:778–785.
33. Kanarek G., Horne E., Zaleśny G. 2013. *Cyathostoma (Cyathostoma) phenisci* Baudet, 1937 (Nematoda: Syngamidae), a parasite of respiratory tract of African penguin *Spheniscus demersus*: morphological and molecular characterisation with some ecological and veterinary notes. *Parasitology International* 62:416-422
34. Kanarek G., Zaleśny G. 2014. Extrinsic- and intrinsic-dependent variation in component communities and patterns of aggregations in helminth parasites of great cormorant (*Phalacrocorax carbo*) from N. E. Poland. *Parasitology Research* 113: 837-850.
35. Kanarek G., Zaleśny G., Czujkowska A., Sitko J., Harris PD. 2015. On the systematic position of *Collyricloides massanae* Vaucher, 1969 (Platyhelminthes: Digenea) with notes on distribution of this trematode species. *Parasitology Research* 114: 1495-1501.
36. Kanarek G., Zaleśny G., Sitko J., Blanco A.I. 2016a. Taxonomic status of *Cyathostoma* nematodes (Nematoda: Syngamidae) parasitizing respiratory tracts of birds of prey and owls in Europe and North America: How many species are there? *Helminthologia* 53: 47-54.
37. Kanarek G., Zaleśny G., Sitko J., Rząd I. 2016b. Taxonomic status of *Syngamus* nematodes parasitizing passeriform hosts from Central Europe: Morphological, morphometric and molecular identification. *Parasitology International* 65: 447-454.



38. Kanarek G., Zaleśny G., Sitko J., Tkach VV. 2014. Phylogenetic relationships and systematic position of the families Cortrematidae and Phaneropsolidae (Platyhelminthes, Digenea). *Folia Parasitologica* 61: 523-528.
39. Kanarek, G., Zaleśny, G., Sitko, J., Tkach, V. 2014. Phylogenetic relationships and systematic position of the families Cortrematidae and Phaneropsolidae (Platyhelminthes: Digenea). *Folia Parasitologica* 61; 523-528.
40. Knecht D., Jankowska A., Zaleśny G. 2012. The impact of gastrointestinal parasites infection on slaughter efficiency in pigs. *Veterinary Parasitology* 184: 291-297.
41. Knecht D., Popiołek M., Zaleśny G. 2011. Does meatiness of pigs depend on the level of gastro-intestinal parasites infection? *Preventive Veterinary Medicine* 99: 234-239.
42. Literak I, Tenora F, Letkova V, Goldova M, Torres J, Olson PD 2006. *Mesocestoides litteratus* (Batsch, 1786) (Cestoda: Cyclophyllidae: Mesocestoididae) from the red fox: morphological and 18S rDNA characterization of European isolates. *Helminthologia* 43:191– 195.
43. Literák, I., Sitko, J. 2006. Where in Europe should we look for sources of the cutaneous trematode *Collyriclum faba* infections in migrating birds? *Journal of Helminthology* 80; 349-355.
44. Literák, I., Sitko, J., Sychra, O., Čapek, M. 2011. Cutaneous trematode *Collyriclum faba* in wild birds in Costa Rica. *Helminthologia* 48; 288-289.
45. Loker E.S., Hofkin B.V. 2015. Parasitology: a conceptual approach. Taylor & Francis Group, NY.
46. Mas-Coma, S., Feliu, C. 1977. Contribucion al conocimiento de la helmintofauna de macromamíferos Ibericos. IV. Parasitos de *Apodemus sylvaticus* Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae). *Revista Ibérica de Parasitología* 37; 301-317.
47. Miterpakova M., Hurnikova Z., Zaleśny G., Chovancova B. 2013. Molecular evidence for the presence of *Dirofilaria repens* in beech marten (*Martes foina*) from Slovakia. *Veterinary Parasitology* 196: 544–546
48. Morand S., Krasnov B., Poulin R. 2006. Micromammals and Macroparasites. From evolutionary ecology to management, Springer- Verlag, Tokio.
49. Nieberding, CM, Durette-Desset MC, Vanderpoorten A, Casanova JC, Ribas A, Deffontaine V, Feliu C, Morand S, Libois R, Michaux JR: Geography and host biogeography matter for understanding the phylogeography of a parasite. *Mol Phylogenet Evol* 2008, 47:538-554.
50. Okulewicz, A., Okulewicz, J., Sitko, J., Wesołowska, M. 2010. New records of digenean flukes (Trematoda) in birds in Poland. *Wiadomości Parazytologiczne* 56; 67-70.
51. Ondrikova J., Stanko M. 2009. Preliminary report on the helminth fauna of the striped field mouse (*Apodemus agrarius*). *Folia faunistica Slovaca*, 14: 123–126. (In Slovak).
52. Perez Ponce de Leon G. 1995. Host-induced morphological variability in adult *Posthodiplostomum minimum* (Digenea: Neodiplostomidae). *Journal of Parasitology*; 81:118-120.
53. Poulin R. 2007. Evolutionary Ecology of Parasites. Princeton University Press, Princeton, NJ.
54. Poulin, R., and D. Mouillot. 2004. The evolution of taxonomic diversity in helminth assemblages of mammalian hosts. *Evolutionary Ecology* 18:231-247.
55. Poulin, R., B.R. Krasnov, and D. Mouillot. 2011. Host specificity in phylogenetic and geographic space. *Trends in Parasitology*, 27:355-361.
56. Priemer J 1982. On the problem of European *Mesocestoides* species (Cestoda) from mammals. *Helminthologia* 20:89–95
57. Radev V, Kanev I, Khrusanov D, Fried B. 2009. Reexamination of the life cycle of *Isthmiophora melis* (Trematoda: Echinostomatidae) on material from southeast Europe. *Parazitologija*. 43:445-53.
58. Reiterova K., Antolova D., Zaleśny G., Stanko M., Spilovska S., Mosansky L. 2013. Small rodents – permanent reservoirs of toxocarosis in different habitats of Slovakia. *Helminthologia* 50:20-26.
59. Repenning, C. A., Brouwers, E. M., Carter, D. L., Marincovich, L. and Ager, T. A. 1987. The Beringian ancestry of *Phenacomys* (Rodentia, Cricetidae) and the beginning of the modern Arctic borderland Biota. *United States Geological Survey Bulletin* 1687: 1-31

60. Ribas, A., Casanova, J. C., Miquel, J., Fons, R., Giusset, C. Feliu, C. 2005. On the fauna of digenetic trematodes, parasites of small mammals, in the Natural Reserves of Py and Mantet (Oriental Pyrenees, France). *Helminthologia* 42; 71-75.
61. Schwarz, J. 1981. Über den Lebenszyklus des Trematoden *Collyricloides massanae* Vaucher 1969 (Trematoda: Collyrididae) und seine Entwicklungsstadien. *Beiträge zur Naturkunde in Osthessen* 17; 85-99.
62. Shimalov, V. V. 2002. Helminth fauna of the striped field mouse (*Apodemus agrarius* Pallas, 1778) in ecosystems of Belorussian Polesie transformed as a result of reclamation. *Parasitology Research*, 88: 1009–1010.
63. Šimková A., Sitko J., Okulewicz J., Morand S. 2003. Occurrence of intermediate hosts and structure of digenean communities of the black-headed gull *Larus ridibundus* (L.). *Parasitology* 126:69-78.
64. Sitko J. 1993. Ecological relations of trematodes infecting Lariform birds in Czech Republic. *Acta Sci Natur Acad Brno* 27:1-98.
65. Sitko J., Zaleśny G. 2014. The effect of urbanization on helminth communities in the Eurasian blackbird (*Turdus merula* L.) from the eastern part of Czech Republic. *Journal of Helminthology* 88: 97-104.
66. Sitko, J., Faltýnková, A., Scholz, T. 2006. Checklist of the trematodes (Digenea) of birds of the Czech and Slovak Republics. Academia, Praha; 111 pp.
67. Tenora F 2005. *Mesocestoides litteratus* (Batsch, 1786) (Cestoda), parasite of *Vulpes vulpes* (L., 1758) (Carnivora) in the Czech Republic. *Acta Univ Agr et Silvi Mendel Brun* 53:185–188.
68. Zaleśny G., Hildebrand J., Percec-Matysiak A., Okulewicz A. 2006. First report of *Syphacia vanderbrueeli* Bernard, 1961 (Oxyuridae) from *Micromys minutus* in Poland. *Helminthologia* 43: 237-238.
69. Zaleśny G., Hildebrand J., Popiołek M., Okulewicz A. 2008. *Dentostomella translucida* Schulz & Krepkorgorskaya, 1932 (Nematoda, Heteroxyneematidae), a new species for the European nematofauna. *Acta Parasitologica* 53: 219-221.
70. Zaleśny G., Percec-Matysiak A., Okulewicz A. 2005. Analiza antygenów somatycznych nicienia *Aspiculuris tetraptera* (Oxyuridae) oraz ich rola w tworzeniu odpowiedzi immunologicznej u myszy laboratoryjnych. *Wiadomości Parazytologiczne* 52: 109-114.

Data i podpis;

8-12-2016

