

Prof. dr hab. Maciej Grzybek

Zakład Parazytologii Tropikalnej

Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej

Gdański Uniwersytet Medyczny

Gdynia, 16 września 2024r.

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr Ewy Magdaleny Pyrki pt; „Taksonomiczne i filogenetyczne aspekty układu pasożyt - żywiciel (*Digenea*, *Strigeidae*) w oparciu o badania molekularne” wykonanej w Zakładzie Parazytologii Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Warszawskiego, pod kierunkiem dr hab. Joanny Hildebrand, prof. UWr w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk biologicznych.

Podstawą recenzji jest wniosek prof. dr hab. inż. Marcina Kadeja, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne Uniwersytetu Wrocławskiego.

Formalny opis rozprawy

Pani mgr Ewa Pyrka przygotowała rozprawę doktorską zgodnie z możliwością dopuszczającą zgromadzenie własnego dorobku w danym temacie, ze wstępem naświetlającym kontekst pracy

(Art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce). Osiągnięcie naukowe zostało przedstawione jako cykl trzech pełnotekstowych publikacji, spójnych tematycznie, dotyczących zrozumienia biologii i filogenezy układu pasożyt – żywiciel przy pomocy metod molekularnych u przedstawicieli rodziny *Strigeidae*.

Mgr Ewa Pyrka przedstawiła następujące publikacje:

- 1) **Pyrka E**, Kanarek G, Zaleśny G *et al.* Leeches as the intermediate host for strigeid trematodes: genetic diversity and taxonomy of the genera *Australapatemon* Sudarikov, 1959 and *Cotylurus* Szidat, 1928. *Parasites Vectors* 14, 44 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04538-9>
- 2) **Pyrka E**, Kanarek G, Gabrysiak J, et al. Life history strategies of *Cotylurus* spp. Szidat, 1928 (Trematoda, Strigeidae) in the molecular era - Evolutionary consequences and implications for taxonomy. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 2022 Jun 11;18:201-211. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2022.06.002>
- 3) Kanarek G, Gabrysiak J, **Pyrka E**, et al. Hyperparasitism among larval stages of *Digenea* in snail hosts: sophisticated life strategy or pure randomness? The scenario of *Cotylurus* sp., *Zoological Journal of the Linnean Society*, Volume 200, Issue 4, April 2024, Pages 865–875, <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlad102>

Prace te zostały opublikowane w renomowanych, zagranicznych periodykach naukowych: *Parasite & Vectors* (2021: Impact Factor 4.047, 100 pkt MNiSW), *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* (2022: Impact Factor 2.6, 100 pkt MNiSW) oraz *Zoological Journal of the Linnean Society* (2023: Impact Factor 3.0, 140 pkt MNiSW). W dwóch publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem, z udziałem odpowiednio 75% i 70%, a w trzeciej pracy jest trzecim autorem z wkładem ocenianym na 30%. Rozprawa doktorska zawierała streszczenia rozprawy w języku polskim i angielskim, wstęp, cele pracy i hipotezy badawcze, osiągnięte wyniki i ich omówienie, podsumowanie i wnioski. Dołączono spis piśmiennictwa oraz wymagane oświadczenia współautorów prac, potwierdzające znaczącą rolę Doktoranta w ich powstanie.

Wartość merytoryczna rozprawy

Przywry to pasożytnicze płazińce o złożonych cyklach życiowych, obejmujących wielu żywicieli, w tym mięczaki, ptaki i bezkręgowce wodne. Istotnym elementem ich cyklu życiowego jest rola żywicieli pośrednich, takich jak ślimaki i pijawki, które umożliwiają rozwój i przenoszenie tych pasożytów w środowisku wodnym. Pomimo znanej roli pijawek w przenoszeniu przywr, różnorodność gatunkowa i molekularna larw, zwłaszcza strigeidów, takich jak gatunki *Cotylurus*, wciąż pozostaje niewystarczająco zbadana. Organizmy te zwykle zarażają przewód pokarmowy ptaków wodnych, a ich pierwszym żywicielem pośrednim są ślimaki płucodyszne, podczas gdy różne gatunki ślimaków wodnych oraz pijawek pełnią rolę drugiego żywiciela pośredniego.

Wyjątkową strategią przetrwania niektórych przywr jest hiperpasożytnictwo, w którym larwy gatunków *Cotylurus* wykorzystują larwalne stadia innych przywr, takich jak sporocysty i redie, w obrębie swoich ślimakowych żywicieli. To wysoce rozwinięte zachowanie zwiększa sukces rozwojowy i efektywność transmisji, ukazując złożoną współewolucję między przywrami, a ich żywicielami. Zrozumienie tych strategii życiowych jest kluczowe dla wyjaśnienia ścieżek transmisji przywr oraz relacji żywiciel-pasożyt.

W pierwszej pracy Doktorantka badała pozyskane od kwietnia 2017 do września 2018 pijawki (n=153) z małych rzek i kanałów melioracyjnych w trzech regionach Polski. Doktorantka przeprowadziła sekcje parazytologiczne i znalazła charakterystyczne dla rodziny Strigeidae metacerkarie u 40% badanych osobników, ze średnią intensywnością 19 osobników na pijawkę. Następnie Doktorantka izolowała DNA z pojedynczych metacerkarii celem przeprowadzenia analizy filogenetycznej. Doktorantka zidentyfikowała dwa rodzaje Strigeidae: *Australapatemon* i *Cotylurus*. Przy użyciu analizy filogenetycznej potwierdziła odrębność *Australapatemon* i *Cotylurus*. Metacerkarie *Cotylurus* Doktorantka zidentyfikowała jako *C. strigeoides* i *C. syrius*. Nowum wnoszącym do taksonomii jest wykrycie, po raz pierwszy u żywiciela pośredniego, *C. syrius*. Wyniki analizy filogenetycznej sugerują, iż *C. cornutus* oraz *C. strigeoides/C. syrius* zajmują odrębne nisze ekologiczne i mają różne cykle życiowe, co może mieć poważne konsekwencje ewolucyjne dla relacji pasożyt-żywiciel. Co więcej, Doktorantka wnioskuje, iż niezbędne jest poddanie ponownej weryfikacji istotności kryteriów morfologicznych, używanych do identyfikacji dorosłych osobników przywr z rodzaju *Cotylurus*.

W drugiej publikacji Doktorantka poczyniła badania parazytologiczne ślimaków słodkowodnych (n=258) odłowionych z wybranych lokalizacji na terenie Pomorza Gdańskiego i Dolnego Śląska. Doktorantka wykryła obecność metacerkarii typu tetracotyle u 19.8% badanych ślimaków. Doktorantka nie znalazła znaczących różnic w prevalencji metacerkarii pomiędzy miejscami badania, ale opisała znaczące różnice w prevalencji zależące od gatunku żywiciela. Doktorantka izolowała DNA z metacerkarii celem przeprowadzenia analizy taksonomicznej. W tym badaniu wykorzystano dwa markery molekularne (28S rDNA oraz COI1). Przeprowadzone badania potwierdziły przynależność badanych metacerkarii do rodzaju *Cotylurus*, oraz wykazały ich wysokie zróżnicowanie molekularne. Wyniki potwierdziły polifiletyczny charakter *C. syrius* Dubois, 1934 (z trzema odrębnymi liniami molekularnymi na poziomie gatunkowym) i *C. cornutus* (Rudolphi, 1809) Szidat, 1928 (z czterema odrębnymi liniami molekularnymi na poziomie gatunkowym). Ponadto, wykazano istnienie dwóch odmiennych linii filogenetycznych i ekologicznych w obrębie rodzaju *Cotylurus* (jedna wykorzystuje pijawki, a druga ślimaki jako drugich żywicieli pośrednich), które znacząco różnią się swoimi strategiami życiowymi.

W trzeciej pracy Doktorantka uczestniczyła w badaniach dotyczących hiperpasożytnictwa metacerkarii *Cotylurus* sp. na aseksualnie rozmnażających się larwalnych stadiach trematodów (sporocysty i/lub redie) u ślimaków, które pełnią rolę żywicieli pośrednich. Doktorantka wraz z zespołem przebadła 1273 osobniki ślimaków słodkowodnych zebranych z wybranych siedlisk na terenie Pomorza Gdańskiego, Dolnego Śląska i Lubelszczyzny. W zebranym materiale zidentyfikowała 19 gatunków ślimaków należących do 12 rodzajów. Następnie badano występowanie metacerkarii typu tetracotyle i stwierdzono ich obecność u 21% ślimaków. Obecność sporocyst i redii potwierdzono u 413 ślimaków. Doktorantka wykryła istotne różnice w ekstensywności zarażenia tetracotylami i sporocystami/rediami. Potwierdzono wyższą częstość występowania i średnią intensywność tetrakotyli u ślimaków niezarażonych sporocystami/rediami niż u ślimaków współzarażonych tymi larwalnymi stadami i tetrakotylami. Te różnice sugerują negatywne relacje między tetrakotylami a aseksualnie rozmnażającymi się larwalnymi stadami przywr u ślimaków, co może mieć wpływ na strukturę i funkcjonowanie larwalnych infracspołeczności przywr w ślimakach-żywicielach pośrednich.

Poprawność redakcyjna rozprawy

Praca została przygotowana starannie i posiada typową dla rozpraw doktorskich formę zgromadzenia własnego dorobku naukowego. Problemy badawcze zawarte w publikacjach zostały ujęte w syntetycznym i spójnym tematycznie streszczeniu zawierającym wstęp wprowadzający w podjętą tematykę badawczą, precyzyjnie zdefiniowane cele badawcze rozprawy, wyniki i ich omówienie, a także wnioski. Doktorantka odnosi się do adekwatnej i aktualnej literatury, co świadczy o dobrej znajomości światowego, wiodącego piśmiennictwa. Podsumowanie i wnioski są precyzyjną odpowiedzią na postawione cele badawcze. Całość pracy napisana jest jasnym, zwięzłym językiem z użyciem specjalistycznego słownictwa.

Uwagi krytyczne

W publikacji nr 1 w Tabeli nr 1 Doktorantka raportuje prevalencję metacerkarii (wyrażony w procentach stosunek liczby żywicieli zarażonych danym gatunkiem pasożyta do liczby żywicieli zbadanych) oraz intensywność zarażenia. Nawiązując do najlepszych standardów

raportowania wyników w parazytologii wartości prevalencji powinny przedstawiane być zawsze z podaniem wartości $\pm$ 95CI, a raportowane średnie powinny przedstawiane być zawsze z podaniem wartości odchylenia standardowego (Zaloumis et al. 2015 oraz Morrison, 2002).

Ta sama uwaga dotyczy wyników prezentowanych w publikacji nr 2 w Tabeli 2.

Doktorantka w pracy 1 w sekcji Results, przedstawia wyniki ekstensywności i intensywności zarażenia w badanych populacjach i siedliskach. W ocenie recenzenta Doktorantka mogła poddać analizie statystycznej i wykazać istotne różnice (lub ich brak) pomiędzy badanymi siedliskami, co wykonała w pracy nr 2.

W publikacji nr 2 zabrakło podsumowania udziału poszczególnych autorów (Authors contribution) co jest niezmiernie ważnym elementem, szczególnie podczas oceny dorobku w trakcie postępowań awansowych. W opinii recenzenta oświadczenie o wkładzie każdego autora w pracę powinno znaleźć się w każdej publikacji, o czym mówią zasady CRediT oraz wytyczne ICMJE.

Recenzent nie wnosi krytycznych uwag do pracy nr 3.

Podsumowanie

Rozprawa prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauk biologicznych. Doktorantka wykazała się umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, na co wskazuje prawidłowe postawienie hipotez badawczych oraz ich weryfikacja, osiągnięcie celów badawczych poprzez poprawną analizę uzyskanych wyników za pomocą adekwatnych metod badawczych, sformułowanie poprawnych wniosków końcowych, publikacje osiągniętych wyników w wysoko punktowanych periodykach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Tym samym, w opinii recenzenta przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Biorąc pod uwagę powyższe, wnioskuję do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie pani mgr Ewy Pyrki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. Maciej Grzybek

