

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Najda
pt. "Morfologiczna i molekularna analiza Ascaridoidea z Północnej Holartyki"
(Morphological and molecular analysis of Ascaridoidea from the Northern Holarctic)**

Ocena formalna

Recenzowana praca doktorska składa się z pięciu prac opublikowanych w punktowanych czasopismach anglojęzycznych, jedno - *Diseases of Aquatic Organisms* w roku 2015 osiągnęło IF = 2.71. Wszystkie publikacje są współautorskie, w czterech z nich mgr Katarzyna Najda jest pierwszym autorem. Współautorzy prac przedstawili oświadczenia określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie publikacji. Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego Dz. Ustaw nr 204 poz. 1200 z dnia 22. IX. 2011 dopuszcza taki tryb przeprowadzenia przewodu doktorskiego.

Tematyka publikacji jest spójna i dotyczy badań faunistyczno-ekologicznych nicieni z nadrodziny Ascaridoidea pasożytujących u ryb i ssaków morskich zamieszkujących wody Północnej Holarktyki. Identyfikacji helmintów dokonano na podstawie badań morfologicznych i molekularnych. Kręgowce będące żywicielami pasożytów pochodziły z Morza Barentsa, Jeziora Bajkał oraz Zatoki i Cieśniny Hudsona w Kanadzie. Pozyskanie materiału badawczego (lata 2006-2012) było możliwe dzięki nawiązaniu przez profesora Jerzego Rokickiego naukowej współpracy z Instytutem Oceanologii PAN, Baikal Museum of Irkutsk Scientific Center of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, także z Ministry of Agriculture Division of the Fisheries Research & Science w Kłajpedzie na Litwie oraz z Department of Population Medicine University of Guelph w Kanadzie.

Doktorantka podjęła i wykonała badania które są interesujące pod względem teoretycznym a jednocześnie ważne z punktu widzenia zarówno zagrożenia różnorodności biologicznej, także zagrożenia kondycji zdrowotnej ryb i ssaków morskich oraz epidemiologicznego – niebezpieczeństwa dla zdrowia człowieka. Bowiem larwy nicieni z rodziny Anisakidae występujące w rybach, po spożyciu surowego lub półsurowego mięsa wywołują u człowieka groźną w skutkach zoonozę – anisakiozę (anisakiasis). Pierwszy przypadek anisakiozy stwierdzono w latach 50. XX wieku w Holandii po spożyciu tzw. zielonych śledzi. Do roku 2010 liczba zachorowań na świecie wynosiła powyżej 20 000, z

czego 90% w Japonii. Obecnie wśród krajów europejskich najwyższą zachorowalność na anisakiozę notuje się w Hiszpanii ze względu a tradycyjną potrawę anchois (Bao et. al. 2017).

Ocena merytoryczna

Cel pracy, którym było określenie rozprzestrzenienia nicieni z nadrodziny Ascaridoidea u żywicieli - ryb i ssaków morskich z wybranych akwenów Holarktyki został jasno sprecyzowany a potrzeba podjęcia badań dobrze uzasadniona przez Doktorantkę.

Materiał badawczy stanowiły nicienie Ascaridoidea pozyskane głównie z halibutów grenlandzkich (*Reinhardtius hippoglossoides*) oraz 4 innych gatunków ryb z rodzin Pleuronectidae, Gadidae, Sębastidae i Macrouridae odłowionych w Morzu Barentsa, a także pozyskanych z Jeziora Bajkał głowaczy - *Cottocomephorus grewingkii* (głowacz żółtoskrzydły) i *C. inermis* (głowacz długoskrzydły). Analizowano również nicienie pasożytujące u ssaków morskich takich jak: walenie - białucha arktyczna (*Delphinapterus lecas*), oraz fokowate – nerpa obrączkowana (*Pusa hispida*) i fokowas brodaty (*Erignathus barbatus*), które pochodziły z Zatoki i Cieśniny Hudsona.

Uzasadnieniem wykorzystania do badań zróżnicowanych grup kręgowców jest biologia nicieni z nadrodziny Ascaridoidea, których przedstawiciele z rodzajów *Anisakis*, *Pseudoterranova* i *Contracaecum* w formie larwalnej pasożytują w organizmach ryb (żywicieli pośrednich i paratenicznych) a dojrzałość osiągają w ssakach morskich (żywicielach ostatecznych).

Łącznie na przestrzeni kilku lat pozyskano i badaniom morfologicznym oraz analizie molekularnej poddano olbrzymią liczbę nicieni - 14 191 osobników pozyskanych z 445 żywicieli.

Metody – oprócz badań morfologicznych dorosłych nicieni i ich larw, ze względu na występowanie gatunków siostrzanych zastosowano metody molekularne: analiza polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR-RELP) konserwatywnego fragmentu jądrowego rybosomalnego DNA obejmującego gen 5.8S i sekwencje niekodujące (ITS1 i ITS2) oraz sekwencjonowanie.

Dynamikę zarażenia poszczególnych żywicieli wykazano przy pomocy standardowych współczynników ekologicznych: względne zagęszczenie, ekstensywność (prewalencja) i średnia intensywność pasożytów.

Wyniki

Badania molekularne ujawniły u badanych żywicieli występowanie 7 gatunków nicieni z nadrodziny Ascaridoidea : *Anisakis simplex* sensu stricto, *Contracaecum osculatum* A, *Contracaecum osculatum* B, *Contracaecum osculatum* C, *Contracaecum osculatum baicalensis*, *Pseudoterranova bulbosa* i *Hysterothylacium aduncum*.

Najczęściej, bo aż w 97% nicieniami były zarażone halibuty grenlandzkie pochodzące z Morza Barentsa, a dominującymi gatunkami były *Anisakis simplex* s.l. (prewalencja 86.2%, śr. intensywność 45.2) oraz *Contracaecum osculatum* s.l. (prewalencja 89.% śr. intensywność 7.8). Odnotowano zróżnicowane stopnie zarażenia ryb tymi gatunkami pasożytów w zależności od głębokości połowu. U halibutów odłowionych w płytkich wodach (do 610 m) było wyższe zagęszczenie *A. simplex* s.l., a w głębokich - wyższe zagęszczenie *C. osculatum* s.l. Wykazano też dodatnią korelację między poziomem zarażenia nicieniami a długością ciała halibutów. Dzięki badaniom molekularnym ujawniono po raz pierwszy, że halibuty grenlandzkie w Morzu Barentsa mogą być żywicielami siostrzanych gatunków – *Contracaecum osculatum* B i *C. osculatum* C.

W kolejnych publikacjach zawarto wyniki badań składu gatunkowego nematofauny innych ryb – karmazyna, dorsza atlantyckiego, buławika siwego i niegładzicy, u których zidentyfikowano 6 gatunków nicieni. Dokonano analizy preferencji poszczególnych gatunków pasożytów do zasiedlania organów żywiciela oraz prześledzono różnice zarażenia Ascaridoidea w zależności od gatunku ryby, miejsca jej życia biorąc pod uwagę gatunki bentosowe i bentopelagiczne.

Typowym dla ryb jeziora Bajkał okazał się nicien *C. osculatum baicalensis*, którego rozprzestrzenienie zbadano u ryb *Cottocomephorus grewingkii* i *C. inermis*. Określono zależności między poziomem zarażenia żywicieli a ich płcią a także zbadano dynamikę inwazji w zależności od wieku ryb.

Poprzez łańcuch troficzny następuje transmisja pasożytujących w rybach larw nicieni Ascaridoidea do ssaków morskich, które są ich żywicielami ostatecznymi. U odżywiających się rybami ssaków z Zatoki i Cieśniny Hudsona zidentyfikowano: u fok (nerpa obrączkowana i fokowas brodaty) 3 gatunki pasożytów: *Pseudoterranova bulbosa* oraz *Contracaecum osculatum* A i *C. osculatum* C, a u białuch arktycznych oprócz tych gatunków dodatkowo *A. simplex* sensu stricto. Wykazano znacząco wyższą intensywność zarażenia fokowasów i dominację innych gatunków nicieni niż u nerp co związane było z preferencjami żywieniowymi i trybem życia żywicieli. Nieco zaskakujące było wykrycie u białuch dominację gatunku *Pseudoterranova decipiens* s.l. (84.6%) i wykazanie, że delfiny w tym

akwenie są żywicielami ostatecznymi nie *Anisakis simplex* s.l. a *P. decipiens*. Po raz pierwszy wykazano u kręgowców wodnych żyjących w Zatoce Hudsona gatunki siostrzane *C. osculatum* A i *C. osculatum* C.

Do nielicznych dostrzeżonych w pracy uchybień zaliczam:

- Bardziej precyzyjnym tytułem rozprawy doktorskiej byłby ...” z wybranych terenów północnej Holarktyki” bowiem tereny badań ograniczyły się do trzech akwenów: Morza Barentsa, Jeziora Bajkał, oraz Zatoki i Cieśniny Hudsona w Kanadzie.
- Doktorantka w rozdziale *streszczenie* omawiając parazytozę wywoływaną przez nicienie z rodziny Anisakidae używa terminu „anizakidoza”, a właściwym terminem jest „anizakioza” (anisakiosis).
- Tylko w jednym oświadczeniu współautora jest oszacowany procentami wniesiony udział w powstaniu publikacji.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa mgr Katarzyny Najda wnosi wiele interesujących i nowych danych dla nauki. Składa się z cyklu pięciu publikacji opartych na właściwie dobranym materiale badawczym z zastosowaniem poprawnych metod, w których wyniki przedstawiono w sposób przejrzysty. Tematyka wpisuje się w zagadnienia parazytologii środowiskowej. Wyniki prac wzbogacają wiedzę o bioróżnorodności na poziomie gatunków i zgrupowań ekologicznych w ekosystemach morskich, które opracowano na podstawie zebranych ponad 11 tysięcy okazów nicieni. Ujawniono nie tylko nowe dla żywicieli gatunki Ascaridoidea w badanych akwenach ale również poznano czynniki wpływające na kondycję zdrowotną ryb i ssaków morskich. Ze względu na zagrożenie różnorodności biologicznej wynika potrzeba monitorowania składu i rozmieszczenia fauny i integracji między gatunkami.

Wskazane drobne usterki i uwagi nie wpływają na wartość merytoryczną pracy, którą oceniam wysoko.

Konkluzja

Wraz z pozytywną oceną dysertacji mgr Katarzyny Najda przedkładam wniosek o dopuszczenie doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego, gdyż praca ta spełnia warunki rozprawy doktorskiej i odpowiada wymaganiom Ustawy o tytule i stopniach naukowych.

Anna Olewnicka