

Wpł. 7.03.2018

Prof. dr hab. Wojciech Piasecki
Zakład Paleooceanologii
Instytut Nauk o Morzu
Wydział Nauk o Ziemi
Uniwersytet Szczeciński

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Najdy

wykonana na zlecenie Dziekana Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego z dnia 6 marca
2018 roku

Otrzymana do oceny rozprawa doktorska zatytułowana **Morfologiczna i molekularna analiza Ascaridoidea z północnej holarktyki** jest pracą kompilacyjną składającą się ze streszczenia angielskojęzycznego, streszczenia polskiego, spisu publikacji, pięciu publikacji angielskojęzycznych, oraz oświadczeń współautorów. Łącznie rozprawa ma 97 stron, z czego 50 stron to następujące publikacje angielskojęzyczne, które stanowią kluczową część tej dysertacji:

- Karpiej K.**, Dzido J., Rokicki J., Kijewska A. 2013. Anisakid nematodes of Greenland halibut *Reinhardtius hippoglossoides* from the Barents Sea. *Journal of Parasitology* 99 (4): 650–654.
- Karpiej K.**, Simard M., Pufall E., Rokicki J. 2014. Anisakids (Nematoda: Anisakidae) from ringed seal, *Pusa hispida*, and bearded seal, *Erignathus barbatus* (Mammalia: Pinnipedia) from Nunavut region. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 94 (6): 1237–1241.
- Rusinek O., Kulikowski M., **Najda K.**, Rokicki J. 2015. *Contracaecum* spp. from endemic Baikal fishes: the Baikal yellowfin *Cottocomephorus grewingkii* (Dybowski, 1874) and the longfin Baikal sculpin *Cottocomephorus inermis* (Yakovlev, 1890). *Oceanological and Hydrobiological Studies* 44 (1): 68–73.
- Najda K.**, Simard M., Osewska J., Dziekońska-Rynko J., Dzido J., Rokicki J. 2015. Anisakidae in beluga whales *Delphinapterus leucas* from Hudson Bay and Hudson Strait. *Diseases of Aquatic Organisms*. 115 (1): 9–14.
- Najda K.**, Kijewska A., Kijewski T., Plauška K., Rokicki J. 2018. Distribution of nematodes (Nematoda: Chromadorea: Ascaridoidea) in fishes from the Barents Sea. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 47 (2): 000–000. [„Szczotka” w druku.]

Wyżej wymienione prace mają od czterech do sześciu autorów. Pani mgr Katarzyna Najda *de domo* Karpiej w czterech publikacjach jest pierwszą autorką zaś w jednym artykule jest wymieniona na trzeciej pozycji. Artykuły wchodzące w skład tej dysertacji ukazały się w latach 2013–2018 w czasopismach „impaktowych” czyli wyróżnionych w Science Citation Index firmy Clarivate Analytics. Wysoka pozycja tych czasopism potwierdza rangę osiągnięć naukowych autorki zawartych w ocenianych publikacjach.

W pierwszej z wymienionych prac zbadano pasożytnicze nicienie z jamy ciała 94 halibutów grenlandzkich (*Reinhardtius hippoglossoides*) złowionych w Morzu Barentsa. Identyfikacji tych pasożytów dokonano zarówno za pomocą metod morfologicznych jak i molekularnych. Metody morfologiczne pozwoliły na wyodrębnienie czterech gatunków: *Anisakis simplex* s.l., *Contracaecum osculatum* s.l., *Pseudoterranova decipiens* s.l. oraz *Hysterothylacium aduncum*. Ustalono podstawowe parametry zarażenia, które okazały się najwyższe w przypadku *C. osculatum* s.l. i *A. simplex* s.l. Liczba pasożytów była wprost proporcjonalna do długości ryby. Metody molekularne pozwoliły na ujawnienie obecności aż 6 gatunków nicieni, z uwzględnieniem gatunków siostrzanych: *A. simplex* sensu stricto, *C. osculatum* A, *C. osculatum* B, *C. osculatum* C, *Pseudoterranova bulbosa* i *H. aduncum*. *Contracaecum osculatum* B, i C wykryto po raz pierwszy u tego gatunku ryby. Wszystkie trzy gatunki siostrzane *C. osculatum* wykrywano również w tych samych osobnikach halibuta.

W drugiej z załączonych prac autorzy zbadali obecność nicieni w 66 żołądkach dwóch gatunków fok – nerpy obrączkowanej (*Pusa hispida*), oraz fokowasa brodatego (*Erignathus barbatus*) złowionych w dwóch lokalizacjach – Arviat oraz Sanikiluaq – w południowo-wschodnim rejonie Zatoki Hudsona w Kanadzie. W pierwszym z tych rejonów znaleziono 2428 Anisakidae w 37 fokach, podczas gdy w drugim – 316 nicieni wyizolowano z 29 fok. Stosując metody morfologiczne oraz molekularne ustalono, że znalezione nicienie reprezentowały: *Contracaecum osculatum* A i C oraz *Pseudoterranova bulbosa*. Były to głównie robaki dorosłe a rzadziej stadia larwalne. Obserwowano zarażenia mieszane wymienionymi gatunkami.

W trzeciej pracy składającej się na oceniany doktorat przebadano dwa endemiczne gatunki ryb z jeziora Bajkał *Cottomephorus grewingkii* (88 szt.) oraz *Cottomephorus inermis* (35) w aspekcie ujawnienie ich pasożytów. W ich jamach ciała znaleziono nicienie, które zostały zidentyfikowane jako larwy L3 *Contracaecum osculatum baicalensis* (Mozjovoi et Ryjnikov, 1950). Zbadano podstawowe parametry zarażenia odnosząc je do płci i długości ryb.

W czwartej z wymienionych prac przebadano 13 żołądków białuchy arktycznej *Delphinapterus leucas* z arktycznej części Zatoki Hudsona i Cieśniny Hudsona. Znaleziono 190 nicieni, których intensywność występowania wahała się od 1 do 57 okazów a ekstensywność zarażenia wynosiła 84,62%. Badania morfologiczne ujawniły obecność 3 gatunków: *Pseudoterranova decipiens* sensu lato, *Contracaecum osculatum* s.l. i *Anisakis simplex* s.l. Analiza molekularna pozwoliła wyróżnić cztery gatunki: *Pseudoterranova bulbosa*, *Contracaecum osculatum* A i C oraz *Anisakis simplex* sensu stricto. Dominowały larwy L3 zaś larwy L4 były sporadycznie znajdowane.

W ostatniej, piątej pracy badano nicienie pasożytujące u ryb reprezentujących cztery rodziny – Pleuronectidae, Gadidae, Sebastidae i Macrouridae. Robaki były zbierane oddzielnie z różnych zarażonych organów: żołądek, jelito, wątroba i jamy ciała. Nicienie badano stosując zarówno podejście morfologiczne jak i metody molekularne (PCR-RFLP). Znaleziono sześć gatunków nicieni: *Anisakis simplex* s.s., *Contracaecum osculatum* A, B i C. *osculatum* C (s.s.), *Hysterothylacium aduncum* oraz *Pseudoterranova bulbosa*. Najliczniej występującym gatunkiem we wszystkich próbach okazał się *Anisakis simplex* s.s. Zaobserwowane różnice w składzie gatunkowym parazytofauny badanych ryb wynikały z głębokości i położenia obszarów pobierania prób.

Opublikowanie wyżej wymienionych pięciu artykułów w renomowanych czasopismach „impaktowych” świadczy o ich wysokim poziomie merytorycznym. Oceny takiej dokonali starannie dobrani recenzenci tych międzynarodowych periodyków. Moim zadaniem jest tylko ustalenie czy zakres tych badań może stanowić podstawę do uznania tych wybranych publikacji jako rozprawy doktorskiej.

Tytuł ocenianej dysertacji, w moim przekonaniu dobrze odzwierciedla jej treść odnosząc się do charakteru badań, zakresu taksonomicznego i zasięgu geograficznego. Jest to typowa praca taksonomiczno-faunistyczna i dlatego nie powinno się w tym przypadku wymagać od autorki postawienia wyraźnej hipotezy badawczej i jej późniejszego testowania. Jest to po prostu praca opisowa (według nomenklatury Prof. Czachorowskiego), w której hipoteza nie występuje.

Struktura tej pracy doktorskiej ma nowatorski charakter i stanowi odejście od tradycyjnego formatu polskich opracowań tego typu. Prezentowanie swoich wyników w postaci zszywki opublikowanych już artykułów jest w naszej rzeczywistości akademickiej nadal nowością. Z tego, między innymi, względu musimy mieć świadomość, że nie wypracowano jeszcze standardów dla oceny tego typu przedsięwzięć. Najwięcej emocji może budzić fakt udziału współautorów w procesie publikacyjnym. W moim przekonaniu jest to

jednak znak czasów i pewne chronologiczne odwrócenie faktów. Otóż w tradycyjnej rozprawie doktorskiej współautorzy zawsze byli, ale ujawniali się dopiero post factum gdy części rozprawy były publikowane. Wcześniej ich nazwiska tradycyjnie występowały w podziękowaniach. Inny dyskusyjny aspekt doktoratu–zszywki to jego zaburzona struktura logiczna oraz pewne powtórzenia szczególnie w spisach literatury i wybranych aspektach wstępu i dyskusji. Takiego stanu rzeczy nie sposób jednak uniknąć biorąc pod uwagę charakter przedsięwzięcia. Tego typu kompilacyjne prace doktorskie od wielu lat weszły do kanonu nauki niektórych krajów takich jak chociażby Kanada lub Szwecja. Tam jednak autorzy takich zszywek umieszczają między poszczególnymi artykułami tzw. interconnecting chapters uzupełnione wstępem i ewentualnym podsumowaniem. U nas, jak wspomniałem, takiej tradycji nie ma tak więc autorzy eksperymentują proponując różne rozwiązania tego właśnie problemu. W naszym przypadku autorka zdecydowała, że elementem spajającym pięć publikacji w jedną całość będzie bardzo obszerne streszczenie pełniące uniwersalną rolę. To właśnie obszerne streszczenie występuje w tej pracy w dwóch językach polskim oraz angielskim. Również tytuł rozprawy jest dwujęzyczny. Podsumowując uważam, że format ocenianej rozprawy jest odpowiedni dla tego rodzaju przedsięwzięcia.

Wspólnym mianownikiem tych publikacji jest rejon badań czyli holarktyka oraz grupa systematyczna organizmów czyli Ascaridoidea. Autorzy badali nicienie pochodzące z ryb z Morza Barentsa, Jeziora Bajkał oraz z fok i waleni z Zatoki Hudsona. Zakres geograficzny tego przedsięwzięcia świadczy bardzo pozytywnie o talentach organizacyjnych i logistycznych autorki oraz o niewątpliwej umiejętności pozyskiwania kompetentnych współautorów. Złożone uwarunkowania przeprowadzenia tych pięciu projektów badawczych są też ważnym elementem, który powinien charakteryzować rozprawy doktorskie.

Tematyka podejmowana przez autorkę ma ważne znamiona praktyczne. Nicienie z nadrodziny Ascaridoidea a szczególnie rodziny Anisakidae bardzo powszechnie występują u ryb na całym świecie i z uwagi na swoje uwarunkowania biologiczne mogą stanowić zagrożenie dla ludzkiego zdrowia pojawiające się w sytuacji spożycia surowych lub nieodpowiednio przetworzonych ryb. Jednostka chorobowa związana z zarażeniem ludzi tymi nicieniami to anisakidoza. Okazuje się, że nie tylko żywe nicienie mogą powodować problemy medyczne. Również ich antygeny mogą powodować problematyczne uczulenia u niektórych ludzi. Jeszcze innym ważnym praktycznym aspektem występowania w rybach larw Ascaridoidea jest pomniejszenie wartości surowców rybnych w aspekcie ich technologicznego przetwarzania. Mechaniczne eliminowanie pasożytów oraz odrzucanie silnie zarażonych sztuk przekłada się na wymierne starty ekonomiczne. Ważnym elementem

ekologii Ascaridoidea jest ich występowanie w postaci dorosłej u morskich ssaków rybożernych (fok i waleni). Człowiek jako ssak może tu być żywicielem przypadkowym a dla epidemiologów wszyscy pozostali żywiele stanowią rezerwuar pasożyta w środowisku. Nie wszystkie Ascaridoidea są patogenne dla ludzi, gdyż niektóre z nich kończą swój cykl rozwojowy nie w ssakach ale w rybach. Z tego też właśnie powodu niezwykle ważna jest wiedza z jakimi gatunkami mamy do czynienia, w jakich żywicielach one występują i jakie są parametry zarażenia i jakie czynniki wpływają na te parametry.

Parametry zarażenia nicieniami nie są stałe i podlegają znaczącym fluktuacjom. Niektóre z nich mają podłoże antropogeniczne. Przełowienie wszechoceanu a szczególnie wyeliminowanie wielkich drapieżników takich jak rekiny, głównie przez japońskie longlinery, spowodowało, że morskie ssaki głównie płetwonogie straciły swoich naturalnych wrogów. To z kolei spowodowało znaczący wzrost populacji fok w holarktyce. Ta zwiększona populacja fok wywierając zwiększoną presję na ryby ułatwiła zamykanie się cykli rozwojowych Ascaridoidea i w konsekwencji zwiększone parametry zarażenia, nie tylko fok ale i ryb.

Niczenie są generalnie bardzo trudne do identyfikacji. Dotychczas stosowane metody morfologiczne oparte na mikroskopii świetlnej (czasem też wspomaganą przez SEM) są niewystarczające do rozróżnienia gatunków siostrzanych, które mogą mieć różną biologię, różną patogenność i różnych żywicieli. Niedostatki metod morfologicznych są obecnie skutecznie uzupełniane przez biologię molekularną, która to jest doskonałym narzędziem do rozróżnienia gatunków siostrzanych. Ograniczenie w wyborze żywiciela dotyczą zazwyczaj pierwszych żywicieli pośrednich natomiast nicienie te nie wykazują specyficzności w wyborze drugiego żywiciela pośredniego (ryba) lub żywiciela paratenicznego (ryba). Dlatego też Ascaridoidea występują kosmopolitycznie a już na pewno na bardzo szerokim obszarze (holarktyka). Wszystkie wymienione powyżej aspekty potwierdzają ważność i złożoność dokonań autorki przedstawionych w ocenianych pracach. Metody molekularne pozwoliły na stwierdzenie obecności u badanych żywicieli następujących gatunków nicieni: *Anisakis simplex* s.s., *Contracaecum osculatum* A, *Contracaecum osculatum* B, *Contracaecum osculatum* C (s.s.), *Hysterothylacium aduncum* oraz *Pseudoterranova bulbosa*, *Contracaecum osculatum baicalensis*. Gatunki te (z wyjątkiem ostatniego) stwierdzano u różnych organach u różnych żywicieli, z różnych środowisk. Zazwyczaj reprezentowały one stadium larwalne L3 ale, szczególnie u morskich ssaków dominowały postaci dorosłe oraz larwy L4.

Tematyka ocenianej rozprawy doktorskiej jest oryginalna. Nikt do tej pory nie podejmował się podobnych badań w podobnym kontekście i zakresie. Oryginalne są nie tylko

informacje o występowaniu tych nicieni u badanych gatunków ryb ale w dwóch przypadkach stwierdzone gatunki notowano po raz pierwszy u konkretnego żywiciela (*Contraecum osculatum* B, i C u halibuta grenlandzkiego). Nie mam wątpliwości, że autorka zademonstrowała swoją obszerną wiedzę teoretyczną z zakresu parazytologii ryb i umiejętność nie tylko samodzielnej pracy naukowej ale co więcej umiejętność koordynowania i organizacji pracy naukowej na przykładzie kilku zespołów badawczych. Przegląd piśmiennictwa w spisach literatury poszczególnych prac świadczy o jej wiedzy z zakresu parazytologii oraz znajomości stosownych źródeł.

Autorka wykazała się nowoczesnym i dobrze opanowanym warsztatem badawczym. Jej badania wypełniają lukę w dotychczasowej wiedzy na temat holarktycznych Ascaridoidea. Autorka zbadła wielu potencjalnych żywicieli nicieni ze odległych stanowisk badawczych, ustaliła z jakimi gatunkami mamy do czynienia i jakie są parametry zarażenia. Poprzez opublikowanie swoich danych autorka wytyczyła kierunki przyszłych badań. Złożoność i szczegółowość przedstawionych wyników jak najbardziej uzasadnia ich zbiorcze uznanie jako rozprawy doktorskiej. W rozprawie jest aż pięć artykułów i to, jak mi się wydaje wyczerpuje wymóg obszerności pracy doktorskiej. Materiał został zebrany z ciekawych i słabo zbadanych miejsc. Całościowo jest to duże osiągnięcie logistyczno-organizacyjne wpisujące się w złożoność wymaganą od prac doktorskich

Praca zwiera też elementy dyskusyjne lub takie które wymagają uzupełnienia. Pierwszy z nich dotyczy wybiórczego potraktowania parazytofauny badanych ryb i ssaków morskich. Autorka opisała tylko nicienie z nadrodziny Ascaridoidea. Z mojego doświadczenia wiem, że u tych żywicieli występują różne grupy taksonomiczne pasożytów. Nie udało mi się niestety ustalić, na podstawie lektury tej rozprawy, co się stało z innymi pasożytami niebędącymi nicieniami. Czy autorka jakieś znalazła i co się z nimi stało? Oczywiście doskonale rozumiem, że ograniczenia każdej rozprawy nie pozwalają na przedstawienie pełnej parazytofauny aż tylu zbadanych ryb i ssaków.

W abstrakcie pracy drugiej autorka stwierdza: „Parasitic nematodes from the stomachs of 66 seals caught in the Nunavut region (Canada) from two communities (Arviat and Sanikiluaq) from October 2007 to January 2008 have been examined in order to identify the epidemiological risk for Inuit communities who consume traditional food.” Chciałbym podczas obrony usłyszeć coś więcej jak autorka wyobraża sobie praktyczne aspekty zagrożenia pasożytami spożywanych fok dla rdzennych mieszkańców Arktyki?

W ostatniej piątej pracy autorzy różnicują badane ryby na dwie grupy – pochodzące z „płytkich” i „głębokich” wód przy czym granicą jest to głębokość 660 m. Mam wątpliwości

czy ten arbitralny podział jest uzasadniony.

Praca, w jej części dodatkowej (streszczenia) zawiera również drobne uchybienia, które jednak nie wpływają na moją pozytywną ocenę całej rozprawy. Dla przykładu angielskie streszczenie aczkolwiek zrozumiałe, ma różne uchybienia stylistyczne.

Podsumowując chciałbym zwrócić uwagę na oryginalność pracy, jej naukowe oraz praktyczne znaczenie, opanowanie trudnego warsztatu badawczego przez autorkę oraz logiczne przedstawienie ciekawych wyników. Mam też nadzieję, że niektóre wątpliwości które przedstawiłem w tej recenzji zostaną wyjaśnione w trakcie publicznej obrony tej rozprawy doktorskiej.

Stwierdzam niniejszym, że oceniana praca doktorska spełnia wymagania określone w Ustawie o Stopniach i Tytułach Naukowych i dlatego wnoszę do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Najdy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Szczecin, 26.04.2018 r.

