



Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Janiszewskiej

pt. Czynniki warunkujące występowanie poliksenicznego ektopasożyta u ptaków zasiedlających odmienne nisze ekologiczne

Formalna charakterystyka rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska mgr Aleksandry Janiszewskiej została przygotowana w Katedrze Badania Różnorodności Biologicznej, Dydaktyki i Bioedukacji Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem promotora prof. Uł dr. hab. Macieja Bartosa oraz dr. Tomasza Rewicza, który pełnił funkcję promotora pomocniczego. Rozprawa składa się z trzech oryginalnych publikacji napisanych w języku angielskim, z których pierwsza została opublikowana w czasopiśmie *Experimental Parasitology* (IF 1,4, 100 pkt MNiSW), druga w *Parasites and Wildlife* (IF 2,0, 100 pkt), a trzecia jest manuskryptem w trakcie recenzji w czasopiśmie *Oikos* (IF 3,0).

Według oświadczenia Autorki, zgodnego z informacjami zawartymi w publikacjach, w pierwszej pracy była ona współautorem koncepcji badań, przygotowania manuskryptu, analizy danych i odpowiedzi na recenzje. W drugiej i trzeciej publikacji Jej rola była podobna z dodatkowym autorstwem baz danych. Kandydatka oceniła swój udział w powstaniu publikacji na 50%-55%, co jest zgodne z oświadczeniami pozostałych współautorów. Biorąc pod uwagę wieloautorski charakter publikacji (7-11 autorów) należy stwierdzić, że rola p. mgr Janiszewskiej w powstaniu wszystkich trzech rozdziałów rozprawy doktorskiej były wiodąca.

Struktura rozprawy

Rozprawa doktorska jest poprzedzona autorskim opisem, który rozpoczyna się streszczeniami w języku polskim i angielskim oraz ogólnym wprowadzeniem do tematyki badań prowadzonych przez Doktorantkę. Następnie przedstawiono cele i hipotezy badawcze poszczególnych rozdziałów/publikacji. W kolejnym rozdziale metodycznym zaprezentowano obszerną charakterystykę różnorodności taksonomicznej, biologii i ekologii badanych pasożytów (wpleszcze) i ich wybranych gatunków żywicielskich (ptaki), obszar badań oraz metodykę odłowu ptaków i próbkowania pasożytów oraz stosowane metody laboratoryjne (sekwencjonowanie DNA) i statystyczne. Kolejna część dotycząca omówienia wyników i dyskusji podzielona jest na trzy części odnoszące się do poszczególnych publikacji. Opis rozprawy zamyka obszerny i aktualny spis literatury oraz spis pozostałego dorobku naukowego doktorantki (dwie publikacje). Załączono trzy publikacje stanowiące rozprawę wraz z stosownymi oświadczeniami współautorów o ich udziale w poszczególnych publikacjach.

Za wyjątkiem ostatniego manuskryptu, wyniki zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych, a publikacje przeszły już proces recenzji i korekty edytorskiej (z wyjątkiem ostatniego manuskryptu), zatem trudno by się spodziewać, by zawierały one błędy strukturalne i usterki językowe bądź stylistyczne. I faktycznie, są one skonstruowane według odpowiednich standardów wymaganych w czasopismach biologicznych i napisane dobrym językiem.

Uważam, że struktura rozprawy wraz z opisem jest prawidłowa i zawiera wszystkie niezbędne elementy wymagane dla dysertacji doktorskich.

Ocena merytoryczna

1. Aktualność i oryginalność tematu

Pierwsza z publikacji ma bardziej charakter metodyczny niż ściśle badawczy i dotyczy opracowania nowego narzędzia molekularnego do analiz struktury genetycznej, ekologii i czynników decydujących o charakterze związków z żywicielami wplezczy z rodzaju *Ornithomya*. Stworzenie narzędzi molekularnych, markerów STR, było niezbędnym pierwszym krokiem do realizacji powyższych celów. Uważam te wyniki za znaczne osiągnięcie Doktorantki, gdyż dotychczasowy brak narzędzi molekularnych uniemożliwiał prowadzenie nowoczesnych analiz parazytologicznych w tej istotnej grupie ektopasożytów ptaków i ssaków. Biorąc pod uwagę rosnące zainteresowanie ekologią wplezczy, ich strategiami dyspersyjnymi i wpływem migracji ptaków na przepływ patogenów wektorowanych przez te ektopasożyty, opracowanie przez Doktorantkę takich narzędzi analitycznych ma istotne znaczenie dla metodologii badań w tej grupie.

Druga praca, wykorzystująca stworzone markery molekularne, dotyczy aktualnego i ważnego problemu biologii ewolucyjnej i ekologii pasożytów, jakim jest wpływ zróżnicowania żywicieli na strukturę genetyczną pasożyta. Analiza zróżnicowania genetycznego populacji *Ornithomya avicularia* zasiedlających różnych filogenetycznie i ekologicznie żywicieli wpisuje się w intensywnie rozwijane badania nad interakcjami pasożyt-żywiciel oraz mechanizmami przepływu genów i adaptacji do zajmowanego żywiciela. Tematyka pracy jest szczególnie aktualna w kontekście rosnącego zainteresowania rolą pasożytów w funkcjonowaniu ekosystemów oraz ich znaczeniem jako wektorów patogenów. W przypadku pasożytów ptaków zagadnienie to nabiera dodatkowego znaczenia ze względu na migracje żywicieli, które mogą sprzyjać rozprzestrzenianiu zarówno samych pasożytów, jak i przenoszonych przez nie mikroorganizmów.

W ramach trzeciej publikacji Doktorantka zajmuje się rozpoznaniem czynników kształtujących wzorzec związków w układzie polikseniczny ektopasożyt-żywiciel i analizuje, w jaki sposób cechy biologii i filogenezy żywiciela oraz środowiska zewnętrznego wpływają na prewalencję wplezczy u ptaków migrujących. Tematyka publikacji jest szczególnie aktualna w kontekście zmian klimatycznych, przekształceń środowiska oraz globalnych migracji zwierząt, które mogą istotnie wpływać na rozprzestrzenianie pasożytów i patogenów. Moje szczególne uznanie budzi imponujący zakres badań, w których pod kątem obecności wszołów przeanalizowano ponad

100 000 osobników ptaków reprezentujących 157 gatunków. Dzięki wykazaniu, że rozmieszczenie różnych gatunków wpleszczy jest skorelowane z kombinacją masy ciała, strategii migracyjnej, zajmowanego siedliska i niszy troficznej żywicieli, Doktorantka z współautorami wniosła istotny wkład do zrozumienia mechanizmów kształtujących interakcje pasożyt-żywicieli.

Podsumowując, uważam, że rezultaty badań składające się na wszystkie trzy publikacje stanowiące rozprawę doktorską p. mgr Janiszewskiej wypełniają kryterium *novum* naukowego. Podejmują one problematykę zarówno aktualną, jak i naukowo istotną, łącząc zagadnienia ekologii i ewolucji ektopasożytów. Dzięki szerokiej skali i nowoczesnemu podejściu metodycznemu badania p. mgr Janiszewskiej stanowią ważny wkład w rozwój tej dziedziny. W odniesieniu do układu wpleszcze-ptaki można je bez wątplenia określić jako pionierskie.

2. Cel i hipotezy badawcze

W każdej z trzech publikacji, po zwięzłym przedstawieniu tła naukowego podjętych badań, zostały przedstawione cele poszczególnych przedsięwzięć oraz hipotezy badawcze, które miały być zweryfikowane. Tymi celami było:

1. opracowanie nowego narzędzia molekularnego opartego na markerach mikrosatelitarnych do badań z zakresu ekologii molekularnej i genetyki populacyjnej w rodzaju *Ornithomya*,
2. zbadanie struktury genetycznej populacji oraz wewnątrzgatunkowego zróżnicowania *O. avicularia* zasiedlającego różne gatunki żywicieli w trakcie ich jesiennej migracji. Postawiono hipotezę, że wzorce zróżnicowania genetycznego tego gatunku wpleszcza powinny odzwierciedlać zróżnicowanie filogenetyczne lub ekologiczne jego żywicieli,
3. przeanalizowanie zmienności w prewalencji wpleszczy na przeszło 150 gatunkach ptaków podczas jesiennej migracji. Weryfikowaną hipotezą było stwierdzenie, że na prewalencję dwóch modelowych gatunków ektopasożytów (=najczęstszych) mogą wpływać różne kombinacje cech żywicieli, ze względu na ich odmienne strategie pasożytnicze (odpowiednio: generalistyczne i specjalistyczne) oraz preferencje żywicielskie.

Uważam, że cele i hipotezy badawcze zostały jasno sformułowane, miały istotne znaczenie naukowe i zostały pomyślnie zrealizowane i zweryfikowane w ramach każdej z publikacji stanowiących rozprawę doktorską.

3. Metodologia

W pierwszej publikacji, metodycznej, zastosowano nowoczesne narzędzia do wyszukania markerów STR dla *O. avicularia*. Doktorantka jasno określiła kryterium wykluczenia markerów, choć może warto by było doprecyzować liczbę markerów wykluczonych oraz ostateczną liczbę zastosowanych loci, co zwiększyłoby przejrzystość zastosowanej procedury. W wyniku przeprowadzonych badań uzyskano cenne narzędzie do analiz populacyjnych *O. avicularia* i pokrewnych gatunków.

W drugiej publikacji Doktorantka prawidłowo zastosowała właściwe procedury weryfikacji jakości sekwencji oraz wykorzystała odpowiednie testy statystyczne i programy do analizy zróżnicowania oraz struktury genetycznej populacji. Połączenie analiz FST, Dest, STRUCTURE i DAPC zapewniło wysoką wiarygodność wyników. Drobne doprecyzowania techniczne (np. poziom istotności, parametry STRUCTURE) mogłyby dodatkowo zwiększyć przejrzystość metod.

W trzecim rozdziale (manuskrypcie) metody zostały trafnie dobrane do osiągnięcia założonych celów badawczych. Podkreślić należy bardzo dużą próbę pozyskanych żywicieli i wzięcie pod uwagę w analizach statystycznych wielu parametrów ekologicznych oraz czynnika filogenetycznego. W efekcie rezultaty charakteryzują się wysoką wiarygodnością wniosków dotyczących mechanizmów kształtujących prewalencję obu nadanych gatunków wpleszczy.

Ogólnie mogę stwierdzić, że zastosowane w rozprawie przez Doktorantkę metody i narzędzia analityczne są nowoczesne, adekwatne do rozwiązywanych problemów i zapewniają wysoką wiarygodność uzyskanych wyników.

4. Literatura

Stwierdzam, że w każdej z publikacji dokonano bardzo rzetelnego przeglądu literatury. Bibliografia jest obszerna, ale nie nadmiernie przeładowana. Poszczególne pozycje są właściwie wyselekcjonowane i dotyczą wszystkich aktualnych i kluczowych publikacji, które zostały odpowiednio zacytowane we wstępach, opisach metodycznych i dyskusji rezultatów. Dobór tych źródeł informacji oraz sposób ich wykorzystania w publikacjach świadczy o dobrym teoretycznym przygotowaniu Doktorantki do realizacji zadań badawczych w parazytologii.

5. Uwagi krytyczne i dyskusyjne

W pierwszej kolejności odniosę się do opisu rozprawy przygotowanego przez Doktorantkę, a następnie przedstawię uwagi do opublikowanych prac.

Rozdział *Wprowadzenie* w opisie ma zbyt ogólny charakter wstępu do parazytologii ewolucyjnej i to bardziej w odniesieniu do patogenów niż ektopasożytów. Zbędne jest rozpisywanie się o tym, że wpleszcze mogą wektorować patogeny, ponieważ ich identyfikacja nie była zadaniem rozprawy doktorskiej. W literaturze jest wiele przykładów badania związków ekologicznych i ewolucyjnych ektopasożytów i ich żywicieli i do tych informacji jako przedmiotu badań Doktorantki należało się odnieść we *Wprowadzeniu*. Ponadto w tym rozdziale powinna być zamieszczona ogólna charakterystyka biologii i ekologii wpleszczy i ich wybranych żywicieli. Te informacje znajdujemy w rozdziale *Metody*, co jest nielogiczne. Z kolei w *Metodach*, które powinny nosić tytuł *Materiał i metody*, brak informacji charakteryzujących pozyskany materiał, a przecież był imponujący i stanowiący, moim zdaniem, jedną z największych wartości tej rozprawy. Ponadto w części *Cele i hipotezy badawcze* pojawia się częściowe omówienie wyników, co też jest błędem. Wymienione powyżej usterki dotyczą strony formalnej i błędów w przypisaniu odpowiednich treści do adekwatnych rozdziałów opisu, nie są natomiast zarzutami o charakterze merytorycznym.

Praca dotycząca opracowania markerów STR (Janiszewska et al., 2023) przedstawia opracowanie nowego molekularnego narzędzia do badania ekologii molekularnej wplezczy. Narzędzie te uzyskano pomimo początkowego błędu metodycznego, polegającego na użyciu danych genomowego DNA pojedynczego osobnika. Takie podejście uniemożliwiło wykrycie polimorfizmu pojedynczych nukleotydów, co mogło mieć przełożenie na brak amplifikacji niektórych loci. Mimo tego, liczba i heterozygotyczność pozyskanych markerów są wystarczające do prowadzenia analiz populacyjnych *O. avicularia*.

Mam ponadto kilka drobnych uwag do powyższej pracy:

1. w publikacji powinny znaleźć się tylko te loci, które przeszły pozytywne testy PCR. W tabelach niepotrzebnie znalazły się loci 3, 10, 13 i in., które nie dały produktu PCR. Jest to normalna sytuacja, że nie wszyscy kandydaci na marker STR takim markerem ostatecznie zostają, a ujęcie ich w tabelach tylko zaciemnia przekaz.
2. locus nr 4 - Autorka nigdzie w publikacji nie komentuje wyniku wskazującego, że startery nie działały w gatunku, dla którego je zaprojektowano, a umożliwiły amplifikację alleli w locus STR innego gatunku z tego samego rodzaju.
3. jest dla mnie niejasne, co oznaczają kolory i symbole na Fig. 1 w tej publikacji; swoją drogą powinien to wychwycić redaktor na etapie przyjmowania manuskryptu.

W publikacji na temat zróżnicowania genetycznego wplezczy (Janiszewska et al., 2025), choć mamy do czynienia z dobrze próbkowanymi i różnorodnymi biologicznie, ekologicznie i filogenetycznie żywicielami, to próbki pochodzą w rzeczywistości z relatywnie ograniczonego obszaru (Polska) w odniesieniu do ich realnego zasięgu. To utrudnia ocenę, czy obserwowane różnice genetyczne są efektem ekoewolucyjnej interakcji z żywicielem, czy raczej izolacji geograficznej. Ponadto choć dane dotyczące odłowionych ptaków są solidne, to, prócz prewalencji, informacje o populacji wplezczy są ubogie, np. nie ma danych o płci pasożytów czy, przede wszystkim, poziomie infestacji. Może to prowadzić do trudności z oceną, czy efekty ekologiczne nie nakładają się częściowo z genetycznymi.

Do badań wybrano cztery „gatunki” żywicieli, ale dwa gatunki *Acrocephalus* potraktowano jako jeden. To trochę ryzykowne uproszczenie. Jest to tylko drobna frakcja z 65 gatunków potencjalnych żywicieli. Zatem rezultaty przedstawiają tylko pewien (jaki?) fragment z pełnej skali mechanizmów kształtujących poliksenizm *O. avicularia*.

Manuskrypt Janiszewska et al. (2025) to bardzo solidne, szeroko zakrojone badanie oparte o obszerny materiał zbierany przez 10 lat. Jednakże mam podobne uwagi co do zakresu interpretacji wyników jak w poprzedniej publikacji. Badania dotyczyły tylko zerojedynkowej prewalencji analizowanej w trakcie fragmentu cyklu życiowego żywicieli (jesienna migracja) i ograniczonego w skali ich zasięgu areału (Polska). Mimo, że wykonano gigantyczną pracę, to uzyskane wyniki są jedynie pewnym, trudnym do walidacji fragmentem całego scenariusza ekoewolucyjnego dla globalnego układu wplezcze-ptaki. Choć liczebność prób jest ogromna, to większość z nich pochodzi z wróblowych (Passeriformes). Zdecydowanie mniejsze próbkowanie ptaków z innych rzędów może wpływać negatywnie na porównania między gatunkami. Ponadto analizy oparte są na uśrednionych cechach gatunkowych (masa ciała, strategia pokarmowa, typ siedliska). Moim zdaniem te dane powinny być rozszerzone o informacje, zapewne

odnotowywane przez ornitologów w trakcie odłowów, dotyczące np. kondycji osobników, stanu upierzenia, poziomu tłuszczu, warunków pogodowych - są to czynniki potencjalnie istotnie wpływające na obecność tak mobilnych ektopasożytów jakimi są wpleszcze.

Pytania, które recenzent chciałby zadać Doktorantce podczas obrony

1. W drugim rozdziale pracy analizowana jest struktura genetyczna czterech populacji *O. avicularia* zasiedlających różne gatunki ptaków. Autorka analizując rezultaty STRUCTURE i DACP twierdzi, że obie rekonstruuje podobne dwa klastry. Wydaje mi się, że o ile w STRUCTURE faktycznie „pomarańczowy” genotyp jest bardziej charakterystyczny dla bekasa i kosa w odróżnieniu do uszatek i trzciniaaków/trzciniczków, to DACP raczej pokazuje trzy klastry, grupując osobno kosy i bekasy. Prosiłbym o wyjaśnienie tej kwestii.
2. W trzeciej pracy stwierdzono słabe zróżnicowanie genetyczne i szeroki krąg żywicieli u wpleszczy, co raczej nie jest zaskakujące ze względu na ich mobilność. Bardziej zastanawiające są rezultaty dotyczące *Ornithomyia biloba* z dymówki wskazujące na praktyczną monoksenię/oligoksenię i stenoksenię (sporadycznie, ale regularnie na oknówce). Co takiego jest w tym gatunku wpleszcza albo/i dymówki, że idzie „pod prąd” prawie wszystkim pozostałym asocjacjiom wpleszcze-ptaki?
3. Wpleszcze są w większości wielożywicielskimi pasożytami. A czy stwierdzono przypadki żywicieli zasiedlonych przez więcej niż jeden gatunek wpleszcza?

Podsumowanie i wniosek końcowy

Uważam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska p. mgr Aleksandry Janiszewskiej jest oryginalnym dziełem naukowym, w powstaniu którego Doktorantka miała wiodącą rolę. W swych badaniach wykorzystwała ogromny i unikalny w skali świata materiał, który opracowała za pomocą nowoczesnych, w tym autorskich narzędzi molekularnych i dobrze dobranych narzędzi statystycznych. Uzyskane wyniki są wiarygodne i przyczyniają się nie tylko do poznania nieznanych dotąd zależności w układzie wpleszcze-ptaki, ale mają ogólniejsze znaczenie dla poznania ewolucji i ekologii poliksenicznych pasożytów.

Stwierdzam zatem, że recenzowana rozprawa doktorska p. mgr Aleksandry Janiszewskiej spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024, poz. 1571). W związku z tym wnioskuję do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. Stopni Naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie p. mgr Aleksandry Janiszewskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.