

Prof. dr hab. Grzegorz Karbowiak
Instytut i Muzeum Zoologii PAN
ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa

wpis. du.
30.04.2025v.

SEKRETARIAT
Instytutu Medycyny Weterynaryjnej
/ mgr Małgorzata Malinowska /
starszy specjalista

Ocena rozprawy doktorskiej pani lek. wet. Marty Alicji Gałązki pt. „Skład gatunkowy nicieni trawieńca żubrów (*Bison bonasus*) wraz z oceną skuteczności działania antyhelmintyków stosowanych w hodowlach zamkniętych w Polsce na podstawie badań koproskopowych, morfologicznych i molekularnych (Species composition of abomasal nematodes of captive European bison (*Bison bonasus*) in Poland, and the assessment of the anthelmintic efficacy based on coproscopic, morphological and molecular examination).

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, Instytutu Medycyny Weterynaryjnej, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, pod kierunkiem dr hab. Anny M. Pyziel.

I. Formalna charakterystyka rozprawy doktorskiej

W przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej p. lek. wet. Marty Gałązki pt. „Skład gatunkowy nicieni trawieńca żubrów (*Bison bonasus*) wraz z oceną skuteczności działania antyhelmintyków stosowanych w hodowlach zamkniętych w Polsce na podstawie badań koproskopowych, morfologicznych i molekularnych”, postawiono sobie za cel opis składu gatunkowego trawieńca żubrów, oraz opis skuteczności powszechnie stosowanych w weterynarii leków przeciwpasożytniczych w zwalczaniu pasożytów żubra. Doktorantka podjęła się wykonać badania mające przedstawić oraz uzupełnić aktualny stan wiedzy na temat wskazanej w tytule grupy pasożytów żubra, i wykazać czy inwazje pasożytnicze mogą być u tego gatunku ssaka kontrolowane w warunkach naturalnych i w hodowli zagrodowej. Badania mają charakter obserwacji w terenie, uzupełnione są badaniami doświadczalnymi. Interesującą doktorantkę grupą pasożytów są nicienie bytujące w trawieńcu.

Przedstawiona do oceny praca doktorska napisana została w języku polskim, ma formę dozwolonego przez Ustawę spójnego tematycznie zbioru trzech artykułów opublikowanych w punktowanych czasopismach naukowych z Listy Filadelfijskiej. Doktorantka wyznaczyła do realizacji trzy cele główne:

1. Ocena przydatności metod koproskopowych w kontroli zarażenia żubrów;
2. Ocena skuteczności odrobaczania żubrów, utrzymywanych w zagrodach zamkniętych;
3. Określenie składu gatunkowego nicieni trawieńca żubrów w zagrodach w Polsce.

Cel główny miał być osiągnięty przez realizację celów szczegółowych:

1. Porównanie skuteczności metod Willis'a i McMaster'a w diagnostyce parazytologicznej pasożytów żubrów;
2. Określenie ekstensywności i intensywności zarażenia pasożytami żubrów w zagrodach zamkniętych;
3. Ocena wpływu sąsiedztwa innych gatunków zwierząt na zróżnicowanie gatunkowe pasożytów żubrów;
4. Ocena skuteczności stosowanych schematów odrobaczania żubrów utrzymywanych w zagrodach pokazowych i w ośrodkach hodowlanych w Polsce;
5. Ustalenie składu gatunkowego nicieni trawieńca żubrów, żyjących w hodowlach zamkniętych metodami morfometrycznymi wraz z molekularnym potwierdzeniem identyfikacji gatunków;
6. Sporządzenie charakterystyki morfometrycznej nicieni trawieńca żubrów w celu stworzenia klucza umożliwiającego diagnostykę morfologiczną na podstawie rycin i danych pomiarowych.

Wykonane prace mają więc z założenia charakter teoretyczny i stosowany, otrzymane wyniki mają znaczenie dla poszerzenia i uzupełnienia wiedzy podstawowej oraz znajdują zastosowanie w kontroli pasożytów żubra w hodowlach zagrodowych.

Wybór tematu badawczego uważam za trafny – Autorce udało się znaleźć zagadnienie interesujące w zakresie badań podstawowych w parazytologii, a jednocześnie ważne z praktycznego punktu widzenia i istotne w ochronie żubra. Tematyka pasożytów żubra jest istotna z dwóch powodów, o których Doktorantka pisze w rozprawie – żubr nadal jest gatunkiem zagrożonym, znajomość jego patogenów i pasożytów oraz metod ich kontroli jest istotna dla jego utrzymania. Drugi powód to aktualnie zachodzące globalne zmiany, mające wpływ na rozprzestrzenienie pasożytów i zakres ich żywicieli, te zmiany dotyczą również pasożytów żubra i są dobrze udokumentowane. Wnioski z przedstawionej mi rozprawy mogą więc być opublikowane w liczących się czasopismach.

Wstęp zawiera wprowadzenie do tematyki, omówienie zagadnień koniecznych do zrozumienia tez i wniosków: historia odtworzenia populacji żubra, historię monitoringu chorób i patogenów żubra, ze szczególnym uwzględnieniem pasożytów. Przy opisie parazytofauny omawiane są po kolei grupy nicieni, lokalizujące się w poszczególnych odcinkach układu

pokarmowego, a także przywry, tasiemce i kokcydia z rodzaju *Eimeria*. Druga część wstępu poświęcona jest opisowi terapii przeciw pasożytniczej i zjawisku lekooporności.

Część metodologiczna zawiera opis procedury pobrania materiału badawczego, procedurę izolacji jaj nicieni metodą McMaster'a, metodą Willis'a i metodą Baermana. Ocena skuteczności odrobaczania wykonano przez test redukcji jaj w kale.

Wyniki przedstawione zostały w rozdziale 4, w porządku zgodnym z wyznaczonymi celami szczegółowymi. Wynik molekularnej identyfikacji nicieni, obok opisu, przedstawiony został w formie tabeli i w formie graficznej.

W dyskusji, nie dzielonej na podrozdziały, Doktorantka skonfrontowała otrzymane wyniki z danymi z literatury, akcentując własne spostrzeżenia. Najważniejsze wnioski zebrane zostały w rozdziale 6. Jest to rekomendacja metody Willis'a, opis dominującego zgrupowania pasożytów, wykazanie lekooporności nicieni u żubrów w hodowli zagrodowej, i możliwość wymiany pasożytów pomiędzy żubrami a dziki przeżuwaczami żyjącymi w sąsiedztwie.

W załącznikach zamieszczone zostały artykuły będące podstawą autoreferatu. Pierwszy stanowi artykuł opublikowany w czasopiśmie *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, w roku 2022. Impact Factor czasopisma na rok publikacji wynosił 2,00, w Wykazie Czasopism Naukowych MNiSW przyznaje 100 punktów. Autorka opisuje badania, w których porównała czułości dwóch technik flotacji kałowej, tj. zmodyfikowanej metody Willis'a (WM) z metodą McMastera (MM). Metod tych użyto do w diagnostyki pasożytów przewodu pokarmowego żubrów. W badanym materiale dominowały oocysty *Eimeria* spp. oraz jaja Trichostrongylidae. Towarzyszyły im jaja *Capillaria* spp., *Nematodirus* spp. i *Trichuris* spp. Najmniejszą część stanowiły jaja tasiemca *Moniezia* spp. Metoda Willis'a wykazała większą skuteczność, chociaż wyniki uzyskane obydwiema metodami są porównywalne.

Drugim artykuł został opublikowany jest w tym samym czasopiśmie w roku 2023. Celem pracy było zbadanie wpływu innych zwierząt kopytnych na bogactwo parazytofauny żubrów oraz ocena skuteczności zabiegów odrobaczania nicieni przewodu pokarmowego u żubrów. Badanie oparto na badaniu próbek kału od żubrów w 15 zagrodach. Dominującymi pasożytami były *Eimeria* spp. i strongylidy, mniejszy udział stanowiła motyllica wątrobowa, i nicienie *Dictyocaulus viviparus* i *Trichuris* sp.. Wykazano, że bliskie sąsiedztwo innych gatunków zwierząt kopytnych skutkowało większą różnorodnością gatunków pasożytów. We wszystkich przypadkach odrobaczanie albendazolem, fenbendazolem i iwermektyną okazało się nieskuteczne w przypadku strongylidów i *Trichuris* sp.

Trzeci artykuł zamieszczony został w „Parasitology” w roku 2024. Impact Factor czasopisma na rok publikacji wynosił 2,1, w Wykazie Czasopism Naukowych MNiSW

przyznaje 100 punktów. Celem pracy było określenie składu gatunkowego i ekstensywności zarażenia nicieniami trawieńca u żubrów żyjących w niewoli, i porównanie z osobnikami żyjącymi na wolności. W sumie wykryto 11 gatunków nicieni, przy czym zarówno zwierzęta żyjące w niewoli, jak i żyjące na wolności wykazywały podobny skład gatunkowy. Dla 5 gatunków nicieni identyfikację morfologiczną potwierdzono molekularnie.

Udział Doktorantki, będącej autorem korespondencyjnym, jest we wszystkich trzech zamieszczonych pracy wiodący na etapie planowania badań, ich wykonania oraz przygotowania. Łączny IF artykułów wynosi 6,1, liczba punktów ministerialnych 100, cytowań (do maja 2025) 17. Uzupełnieniem całości są spis literatury, tabele i ryciny. Zgodnie z wymogami formalnymi zawartymi w Art. 13, p. 6 Ustawy o Stopniach i Tytułach Naukowych (Dz. U. Nr 65, poz. 595), Autorka zamieściła streszczenie rozprawy w języku angielskim i polskim.**II. Ocena całościowa rozprawy doktorskiej:** We wstępie, oraz w załączonych publikacjach, znajdują się odpowiedzi na pytania sformułowane w celu głównym i w celach szczegółowych. Opis metodyki uważam za prawidłowy. Zastosowano tradycyjne metody, oparte na technikach mikroskopii świetlnej. Ewentualny zarzut nie wykorzystania nowoczesnych metod opartych na reakcji PCR można odeprzeć argumentem, że rozpoznanie składu gatunkowego pasożytów na podstawie morfologii jaj zostało potwierdzone wynikami sekcji parazytologicznej. Ponadto, zastosowanie tradycyjnych metod koproskopowych niezbędne było w teście redukcji liczby jaj. W tym świetle wykorzystywanie kosztownych metod molekularnych nie było by uzasadnione. Znajomość i umiejętność wykorzystania nowoczesnej diagnostyki parazytologicznej Doktorantka wykazała w załączonej publikacji 3 i w kolejnym wątku badawczym – identyfikacji nicieni trawieńca. Otrzymane wyniki i ich opis nie budzą zastrzeżeń. Opisane w Dyskusji wnioski są prawidłowe i poparte uzyskanymi wynikami, oraz danymi z literatury. Piśmiennictwo, zawierające 134 pozycje, wskazuje na dobrą znajomość tematyki badawczej i umiejętność wyszukiwania źródeł. Konstrukcja pracy, podział na rozdziały, styl i język, szata graficzna spełniają wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Możliwym zarzutem mogła by być mała objętość – łącznie 55 stron rozprawy, bez spisu literatury. Tekst jest jednak rzeczowy, bez zbędnych wstawek. Nie znalazłem literówek i błędów interpunkcyjnych, co wskazuje na staranne wykończenie tekstu rozprawy.

Pomimo wysokiej wartości merytorycznej pracy, nie można jednak pominąć kilku mankamentów. Tytuł nie oddaje w pełni zawartości pracy. Wskazuje jako temat badawczy nicienie trawieńca. Zawartość pracy natomiast obejmuje dużo szerszy zakres pasożytów, w tym rodzaj *Eimeria*, nie będący nawet nicieniami, lecz pierwotniakami. Dużo miejsca poświęcono

nicieniom płucnym. Z tego powodu, przy publikowaniu wyników i wniosków z rozprawy, zalecam albo ograniczyć się do jednej grupy nicieni trawieńca, albo, jeśli usunięcie innych pasożytów zuboży wynik obserwacji nad skutecznością leków, zmodyfikować tytuł. Brakuje także uzasadnienia - dlaczego akurat nicienie trawieńca, a nie inna grupa pasożytów? Czy zgrupowanie nicieni trawieńca czymś się wyróżnia, np. składem gatunkowym, wrażliwością na leki? Wyniki badań nad składem gatunkowym pasożytów, zarówno uzyskane metodami koproskopowymi, jak i podczas badań sekcyjnych trawieńca, powinny być przedstawione w formie tabeli. To ułatwiłoby czytelnikowi wgląd w wyniki oraz zrozumienie dyskusji. Takie zestawienia są co prawda w załączonych artykułach, niemniej sam tekst też powinien posiadać adekwatne zestawienie zbiorcze. Cennym uzupełnieniem dla opisu badań koproskopowych i ich wyników byłoby graficzne przedstawienie jaj i cyst wykrywanych pasożytów, z podanym zestawem cech morfologicznych umożliwiającym ich identyfikację. Nie istnieje artykuł przeglądowy ani monografia poświęcona identyfikacji pasożytów żubra, więc nawet ta część rozprawy mogłaby się stać osobną publikacją.

Wyniki ekstensywności zarażenia żubrów opisane zostały jako procent udziału ich jaj w całości. W większości badań epidemiologicznych jest to wystarczające. Jednak przy publikacji wyników proponuję zastosować jeszcze opis zgrupowań pasożytów stosowany w populacjologii, oparty o wskaźnik dominacji Z ($Z = (A \times B) / C^2$, gdzie: A = liczba pasożytów jednego gatunku, B = liczba żywicieli zarażonych jednym gatunkiem pasożyta, C = liczba zarażonych żywicieli). Wskaźnik pozwala określić gatunki dominujące, subdominanty, gatunki wpływowe i gatunki dodatkowe. Taki podział ułatwia porównywanie parazytofauny i wyciąganie wniosków, zarówno pomiędzy odrębnymi populacjami żywicieli jednego gatunku, jak i różnych gatunków.

Inne drobne uwagi:

Autorka używa terminu „prewalencja”. Jest to zapożyczenie z języka angielskiego, w polskim słownictwie parazytologicznym używa się terminu „ekstensywność”.

W streszczeniu (str. 9) Autorka napisała, że przeprowadziła kompleksowe badania parazytologiczne żubrów. Nie jest to prawdą – termin „badania kompleksowe” oznacza badania wszystkich grup pasożytów, a więc pierwotniaków, helmintów, stawonogów, i to zarówno pasożytów jelitowych, tkankowych jak i zewnętrznych. W pracy Doktorantka ograniczyła się jedynie do pasożytów układu pokarmowego i nicieni płucnych. W streszczeniu brak informacji, czy są to badania przyżyciowe, czy sekcyjne. Nie wystarczy że czytelnik znajdzie je w pełnej wersji pracy, są na tyle istotne że streszczenie powinno je zawierać.

We wstępie, na stronie 17, przy wymienianiu nazw taksonów, do których należy żubr, powinny być podane nazwy łacińskie. Wskazane by było, aby przy nazwie łacińskiej żubra, jak i taksonów, podano w tym fragmencie także nazwisko autora taksonu, zgodnie z wymogami Międzynarodowego Kodeksu Nomenklatury Zoologicznej.

Na stronie 23 Autorka napisała, że mechowce to roztocza. Jest to często, niestety, spotykany błąd w nazewnictwie. W zoologii polska nazwa rzędu Acari to roztocze. Natomiast termin „roztocza” jest używany w ekologii w odniesieniu do organizmów rozkładających martwą materię organiczną.

W rozdziale Materiały i Metody Autorka podaje lokalizację geograficzną stosując koordynaty GPS. Można się spierać, czy jest to błąd, czy prawidłowa praktyka w początkach XXI stulecia; mimo wszystko w publikacjach zaleca się zwyczajowo używać koordynatów geograficznych.

III. Podsumowanie oceny rozprawy doktorskiej.

Wszystkie wspomniane zarzuty są typowe dla rozpraw dyplomowych, i nie wpływają na wartość merytoryczną dzieła. Zbiorcze wartości IF i punktów ministerialnych publikacji są przeciętne, ale wystarczające dla pracy doktorskiej. Liczba cytowań (wg Web of Science) jest za to dość wysoka – 9 i 7 cytacji zebranych w ciągu niespełna trzech lat jest w parazytologii dobrym osiągnięciem, liczby te świadczą że artykuły są wartościowe i zauważane przez innych autorów.

W podsumowaniu oceny stwierdzam, że przedstawiona mi rozprawa wnosi do parazytologii i nauk weterynaryjnych cenne informacje o parazytofaunie żubra. Chociaż nie są to pierwsze i pionierskie odkrycia, to stanowią istotną kontynuację kilku pokoleń parazytologów skupionych wokół tego gatunku ssaka, i same staną się inspiracją pod przyszłe badania. Dają wiele możliwości kontynuacji i rozwijania pojawiających się w ich trakcie wątków badawczych, a przedstawione wyniki i wnioski powinny być jak najszybciej opublikowane w liczących się czasopismach.

Wniosek końcowy

Moja ocena rozprawy doktorskiej p. lek. wet. Marty Alicji Gałązki pt. „Skład gatunkowy nicieni trawieńca żubrów (*Bison bonasus*) wraz z oceną skuteczności działania antyhelmintyków stosowanych w hodowlach zamkniętych w Polsce na podstawie badań koproskopowych, morfologicznych i molekularnych” jest jednoznacznie pozytywna. Wartość naukowa przeprowadzonych badań i ich opracowanie w formie dysertacji, spełniają warunki

stawiane rozprawom doktorskim, zawarte w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. z 2004 poz.1571 z późn. zm. i wobec tego wnoszę o dopuszczenie Pani lek wet. Marty Alicji Gałązki do dalszych etapów przewodu doktorskiego,

Warszawa, 24.04.2025 r.

G. Kachow