

dr hab. Anna Maria Drozd
profesor Uniwersytetu Łódzkiego
Katedra Zoologii Bezkręgowców i Hydrobiologii
Uniwersytet Łódzki
ul. S. Banacha 12/16
90-237 Łódź

Łódź, 26.08.2020 r.

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr Anny Marszewskiej

pt.: „*Ptasie schistosomy – zagrożenie świądem pływaków na obszarach kąpieliskowych i biologiczne metody prewencji*” wykonanej na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, pod kierunkiem prof. dr hab. Elżbiety Żbikowskiej oraz promotora pomocniczego – dr Anny Cichy

Przywry digenetyczne to fascynująca grupa zwierząt, charakteryzująca się wyjątkowo złożonymi cyklami życiowymi z udziałem żywicieli pośrednich (głównie mięczaków) i żywicieli ostatecznych (kręgowców), a także wieloma stadiami larwalnymi. Digenea mają duże znaczenie medyczne, szczególnie w endemicznych rejonach występowania przywr krwi, którymi zakażonych jest około 200 milionów ludzi na świecie. Na tym tle, ptasie schistosomy, będące przedmiotem ocenianej rozprawy, wywołujące zmiany skórne określane jako świąd pływaków, należą do mało znanych zagrożeń biologicznych i są rzadko uwzględniane w diagnostyce. Żywicielami pośrednimi przywr z kosmopolitycznego rodzaju *Trichobilharzia*, odpowiedzialnych za pojawianie się świądu pływaków, są słodkowodne ślimaki błotniarki (rodzina Lymnaeidae). Błotniarki występują pospolicie w naszym kraju, w płytkich, często zarośniętych roślinnością wodną stawach i wolno płynących rzekach. Postępujące przekształcenie środowiska naturalnego, w tym budowa niewielkich zbiorników retencyjnych służących rekreacji, powoduje, że zagrożenie świądem pływaków może w przyszłości narastać. Uproszczona struktura biocenozy sprzyjać będzie transmisji pasożytów poza ich właściwych żywicieli ostatecznych, którymi są ptaki wodno-błotne. Inwazja miracydiów ptasich schistosom u człowieka nie ogranicza się do stosunkowo niegroźnej penetracji skóry przez larwy i związanym z tym odczynem alergicznym, ale może dawać także objawy uogólnione, jak gorączka i wymioty. Zaniepokojenie budzą wyniki badań prowadzonych na zwierzętach modelowych, iż w przypadku niektórych gatunków pasożyta, wędrówka larwy odbywa się poprzez system nerwowy żywiciela ostatecznego, co może doprowadzać m. in. do upośledzenia ruchowego. Chociaż nie stwierdzono dotychczas rozwoju ptasich schistosom w organizmie człowieka, to konieczne jest lepsze rozpoznanie tej grupy pasożytów. Do opracowania skutecznych metod prewencji świądu pływaków niezbędne są badania podstawowe, obejmujące określenie rozmieszczenia i prewalencji przywr z rodzaju *Trichobilharzia*, a także poznanie mechanizmów, dzięki którym pasożyty rozpoznają właściwe organizmy żywicielskie. W związku z powyższym uważam wybór tematyki rozprawy doktorskiej za trafny. Dodatkowym walorem jest bez wątpienia aspekt praktyczny badań, tj. zaproponowanie metody kontroli biologicznej tych pasożytów.

WSKAŹNIKI BIBLIOMETRYCZNE

W skład rozprawy doktorskiej mgr Anny Marszewskiej wchodzi cztery, spójne tematycznie artykuły naukowe:

- Marszewska A. et al. 2016. The real threat of swimmers' itch in anthropogenic recreational water body of the Polish Lowland. *Parasitology Research*, 115: 3049-3056.

- Marszewska A. et al. 2018. Agents of swimmer's itch – dangerous minority in the Digenea invasion of Lymnaeidae in water bodies and the first report of *Trichobilharzia regenti* in Poland. *Parasitology Research*, 117: 3695-3704.
- Marszewska A. et al. 2018. *Potamopyrgus antipodarum* as a potential defender against swimmer's itch in European recreational water bodies – experimental study. *PeerJ*, 6, e5045.
- Marszewska A. et al. 2020. The chemotactic swimming behaviour of bird schistosome miracidia in the presence of compatible and incompatible hosts. *PeerJ*, 8, e9487.

Są to prace wieloautorskie, opublikowane w latach 2016-2020 w wysoko punktowanych czasopismach naukowych, a ich łączny IF wynosi **8,84**. Wysokość punktacji według listy ministerialnej wynosi wg obecnego systemu **340 pkt**, natomiast wg listy obowiązującej do 2019 roku - 130 pkt. Ostatnia wymieniona praca została opublikowana on-line 16 czerwca br. i w przesłanych mi do oceny dokumentach figuruje jako przyjęta do druku.

Oprócz wymienionych wyżej publikacji rozprawa doktorska mgr Anny Marszewskiej została opatrzona dziesięciostronicowym komentarzem autorskim z najważniejszą bibliografią, streszczeniem w języku polskim i angielskim, oświadczeniami współautorów publikacji, a także informacją o źródłach finansowania badań.

WKŁAD DOKTORANTKI W POWSTANIE PUBLIKACJI

We wszystkich artykułach wchodzących w skład rozprawy Doktorantka jest **pierwszym autorem**, a w czwartym pełni także rolę autora korespondencyjnego. Według przedstawionego przez Doktorantkę oświadczenia jej zaangażowanie w powstanie wszystkich publikacji polegało na udziale w przygotowaniu koncepcji pracy, udziale w realizacji badań, tworzeniu manuskryptów i ich korekty, a procentowy udział wynosił **55%**. Jest to zgodne z informacją zawartą w publikacjach w PeerJ (Autor Contributions). A zatem indywidualny wkład w badania naukowe, a nawet wiodąca rola Doktorantki w powstaniu wszystkich prac nie budzi najmniejszych zastrzeżeń. Tym samym rozprawa doktorska wypełnia wymagania zawarte w Ustawie z 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z późniejszymi zmianami (Dziennik Ustaw 2017, poz. 1789, art. 13, punkt 4).

OCENA MERYTORYCZNA PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Cykl otwierają dwie prace weryfikują hipotezę, iż istnieje realne zagrożenie inwazją ptasich schistosom na terenie Polski. Pierwsza publikacja przedstawia dwa udokumentowane przypadki świądu pływaków u osób kąpiących się w sztucznym zbiorniku wodnym w Koszalinie oraz analizuje występowanie w tym akwenie żywicieli pośrednich zakażonych ptasimi schistosomami. Autorka potwierdziła obecność zarażonych ślimaków, u których zidentyfikowała 14 gatunków Digenea; wskazała na potrzebę monitorowania ryzyka na jakie narażeni są użytkownicy kąpieliska ze względu na wykrycie potencjalnie groźnych przywr z rodzaju *Trichobilharzia*. Stwierdziła także różnice w długości życia zakażonych i niezakażonych mięczaków, a także zależną od gatunku pasożyta liczbę produkowanych furkocerkarii. Największą produktywnością cechowały się przywry należące do kompleksu gatunków *Trichobilharzia ocellata* (identyfikacja na podstawie morfologii cercarii). Muszę przyznać, że opublikowane w pracy wyliczenia dotyczące liczby zakażonych osobników nie są dla mnie przejrzyste. Autorka pisze na przykład, że ptasie schistosomy stwierdzono u 1,8 % zebranych osobników, a dalej, że prevalencja ptasich schistosom wynosiła 2,8 - 5,9 % (była najwyższa u *Radix balthica/labiata*). Te wątpliwości mógłby rozwiązać appendix z tabelą danych; umieszczenie takiego dodatku uzależnione jest jednak od redakcji czasopisma.

Druga publikacja poświęcona jest poznaniu różnorodności gatunków *Trichobilharzia* w Polsce oraz analizie rozprzestrzenienia tych pasożytów w populacji żywicieli pośrednich. Doktorantka zbadała prewalencję, fluktuacje sezonowe inwazji, a także związek zarażenia z wielkością mięczaka. Do identyfikacji gatunkowej cercarii ptasich schistosom posłużyła się markerami molekularnymi oraz sekwencjami zdeponowanymi w GenBanku, co pozwoliło na wykrycie dwóch taksonów: *T. regenti* (pierwsze w Polsce wykrycie schistosomy neurotopowej) oraz *T. szidati*. Jest to ważne osiągnięcie, gdyż wiadomo, że symptomy świądu pływaków są uzależnione od gatunku przywry, która zaatakowała skórę człowieka. Doktorantka wykazała również, że szczyt zakażeń żywicieli pośrednich następuje w miesiącach wakacyjnych, a źródłem cercarii są przede wszystkim osobniki błotniarek o dużych rozmiarach muszli. Przy okazji wspomnę, że określając rozmiary muszli stosujemy termin *wysokość*, a nie *długość*, jak w omawianej publikacji. Rezultaty tej pracy potwierdzają, że chociaż ptasie schistosomy stanowią niewielką część populacji przywr obecnych w ślimakach słodkowodnych, a ich prewalencja jest niska, to jednak zdolność wysiewania przez nie ogromnej liczby cercarii wskazuje na istnienie realnego zagrożenia świędem pływaków w naszym kraju. Odnośnie omawianej publikacji proszę doktorantkę o wyjaśnienie, dlaczego dla pasożytów występujących u *Lymnaea stagnalis* i *Radix* zastosowano inne markery (odpowiednio: 28S rDNA i ITS).

Pozostałe dwa artykuły dotyczą zastosowania biologicznych metod do przeciwdziałania świądowi pływaków. Doktorantka oparła się na tzw. hipotezie rozcieńczenia „dilution effect”, która zakłada, iż obecność w środowisku niekompatybilnego organizmu utrudnia larwom pasożyta znalezienie docelowych żywicieli. Według niektórych autorów do zakłócenia transmisji pasożyta można wykorzystać gatunki obce, zazwyczaj wolne od naturalnych wrogów na nierodzimych obszarach. Metody te dotychczas były testowane w układzie ślimaki *Biomphalaria* i przywry krwi. Idąc tym samym tropem mgr Anna Marszewska podjęła badania nad zastosowaniem ślimaka – wodożytki *Potamopyrgus antipodarum* w biologicznej kontroli rozprzestrzeniania się ptasich schistosom. Jest to gatunek pochodzący z Nowej Zelandii, obecnie szeroko rozmieszczony w europejskich wodach śródlądowych. Pragnę zaznaczyć, że Doktorantka dobrze przedstawiła charakterystykę biologii i ekologii *Potamopyrgus*, a ponadto wskazała prawidłowo jego stanowisko taksonomiczne (rodzina Tateidae zamieszkująca południową półkulę, nadrodzina Truncatelloidea). Dotychczas w publikacjach polskich malakologów grupa ta była zaliczana do rodziny źródłarkowatych Hydrobiidae, mimo iż w roku 2013 analizy molekularne wskazały jej odrębność (Criscione F. & Ponder W.F. (2013) *A phylogenetic analysis of rissooidean and cingulopsoidae families (Gastropoda: Caenogastropoda)*. Molecular Phylogenetics and Evolution 66: 1075–1082).

Pierwsza praca z omawianego wątku przedstawia wyniki eksperymentu laboratoryjnego, w którym Doktorantka badała wpływ obecności i zagęszczenia populacji wodożytki na sukces inwazji miracydiów *Trichobilharzia regenti* w kompatybilnym żywicielu pośrednim – błotniarce *Radix balthica*. Przeprowadzone badania wykazały, że obecność dużej liczby *P. antipodarum* jest skuteczną „tarczą” chroniącą żywicielskie błotniarki przed inwazją miracydiów. Jednocześnie wodożytki nie zostały zarażone. Uzyskano tym samym empiryczne uzasadnienie dla przyjętego kierunku badań, jednak bez określenia dokładnego mechanizmu tego zjawiska, gdyż nie prześledzono losu miracydiów, które próbowały wnikać do ciała wodożytki.

Rozwinięcie tego zagadnienia znajdujemy w czwartej publikacji, w której Doktorantka skupiła się na analizie chemorecepcji wykazywanej przez inwazyjne larwy w odpowiedzi na bodźce wydzielane przez ślimaki. W serii eksperymentów testowała zachowanie miracydiów *Trichobilharzia regenti* i *T. szidati* w odpowiedzi na substancje chemiczne pozostawione w wodzie przez 1) żywicielskie gatunki błotniarek (odpowiednio *Radix lagotis* i *Lymnaea stagnalis*), 2) gatunki blisko spokrewnione z kompatybilnym żywicielem oraz 3) omawiany wcześniej obcy gatunek *Potamopyrgus antipodarum*. Doktorantka stwierdziła istotne zaburzenia chemo-orientacji miracydiów w obecności bodźców pochodzących od niekompatybilnych żywicieli oraz *P. antipodarum*, co potencjalnie może ograniczyć transmisję ptasich schistosom w środowisku. W porównaniu z poprzednio omawianą publikacją,

badacze zmienili używany w eksperymentach gatunek błotniarki (*Radix balthica/R. lagotis*). Omawiane ślimaki są trudne w identyfikacji dla malakologów, dlatego interesujące byłyby dla mnie dane wskazujące, iż ptasie schistosomy potrafią je odróżnić.

Podsumowując, dotychczasowe badania Doktorantki generują szereg nowych hipotez i dają dobrą podstawę dla dalszych prac nad biologiczną kontrolą zagrożenia świądem pływaków także w warunkach terenowych. Z opublikowanych już prac jasno wynika, że typowany do roli „wabika” *P. antipodarum* nie ulega zarażeniu, a równocześnie istotnie ogranicza dostęp miracydiów do właściwych żywicieli pośrednich. Pojawia się tu bardzo interesujący aspekt - pozytywna z punktu widzenia człowieka rola obcego gatunku. Warto też podkreślić, że otrzymane rezultaty wskazują, że ptasie schistosomy mają bardzo utrudnione znalezienie właściwego żywiciela w środowisku naturalnym, w którym zachowana jest wysoka różnorodność biologiczna.

Trzeba zaznaczyć, że wśród współautorów publikacji składających się na ocenianą rozprawę oprócz Pani Profesor Elżbiety Żbikowskiej, dr Anny Cichy (promotora i promotora pomocniczego) oraz Profesor Grażyny Dąbrowskiej, reprezentujących UMK, znajdują się także Prof. dr hab. Inż. Tomasz Heese z Instytutu Meteorologii i Gospodarki Wodnej w Warszawie, dr Tomasz Strzała z Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz Prof. Petr Horák i dr Jana Bulantová z Uniwersytetu Karola w Pradze. Szerokie grono współpracowników wskazuje na nawiązanie dobrej współpracy naukowej wykraczającej poza macierzystą uczelnię Doktorantki.

Badania terenowe i laboratoryjne wykonane przez Doktorantkę były finansowane w ramach projektu NCN PRELUDIUM, a także dzięki grantom indywidualnym przyznanych mgr Annie Marszewskiej przez UMK. Środki te stanowiły doskonałą inwestycję i umożliwiły rozwój naukowy młodej badaczki. Z dużym uznaniem stwierdzam, że Doktorantka opanowała szeroki wachlarz metod badawczych, od tradycyjnej, morfologicznej identyfikacji pasożytów, poprzez diagnostykę molekularną, badania eksperymentalne i prowadzenie hodowli. Stwierdzam, że mgr Anna Marszewska wykazała umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, a kolejne publikacje stanowią dowód jej rozwoju i doskonalenia warsztatu parazytologa.

Na tle doskonałych tekstów wszystkich opublikowanych prac, Komentarz autorski umieszczony w rozprawie jest mało dopracowany. Mimo, iż Doktorantka nie musiała powtarzać wszystkich informacji zawartych w publikacjach, uważam, że przedstawienie wyników i wniosków, które razem zajmują w Komentarzu mniej niż jedną stronę, jest niewystarczające. Biorąc pod uwagę różnorodność i wagę wykonanych badań, komentarz autorski powinien wychodzić poza omówienie założeń i celów poszczególnych prac.

WNIOSEK KOŃCOWY

Podsumowując, oceniam wysoko rozprawę doktorską mgr Anny Marszewskiej pt.: „*Ptasie schistosomy – zagrożenie świądem pływaków na obszarach kąpieliskowych i biologiczne metody prewencji*” i uważam, że stanowi ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia całkowicie warunki wymienione w Ustawie z 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z późniejszymi zmianami (Dziennik Ustaw 2017, poz. 1789). W związku z tym wnoszę do Rady Naukowej w Dyscyplinie Nauki Biologiczne UMK o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE

Ze względu na wyróżniającą wartość poznawczą badań przeprowadzonych przez mgr Annę Marszewską oraz ich potencjał aplikacyjny, a także wysokie wartości wskaźników bibliometrycznych publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, wnioskuję do Rady Naukowej w Dyscyplinie Nauki Biologiczne UMK o przyznanie Doktorantce stosownego wyróżnienia.

Anne Dmoch