



dr hab., prof. UAM Mirosława Dabert
Wydział Biologii
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Ul. Umultowska 89
61-614 Poznań
Tel. 61 829 5738
E-mail: Mirosława.Dabert@amu.edu.pl

Recenzja
rozprawy doktorskiej Pani mgr Hanny Moniuszko
pt. "Taksonomia i biologia Trombiculidae (Actinotrichida: Parasitengona)
pasożytujących na gryzoniach w Polsce"

Podstawą formalną recenzji jest pismo Dziekana Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego, z dnia 21 lutego 2019 r. Praca została wykonana na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Promotorem rozprawy jest prof. Joanna Mąkol, promotorem pomocniczym dr hab. Grzegorz Zaleśny.

Tematem pracy doktorskiej Pani mgr Hanny Moniuszko jest taksonomia i biologia roztoczy należących do Trombiculidae, najbogatszej w opisane gatunki, bardzo zróżnicowanej i kosmopolitycznej rodziny w ramach lądowych Parasitengona. Trombiculidae charakteryzują się skomplikowanym cyklem życiowym, obejmującym siedem stadiów różniących się nie tylko morfologią, ale również aktywnością i sposobem odżywiania. Szacuje się, że nawet 90% opisanych gatunków znanych jest jedynie z larw, które są obligatoryjnymi pasożytami kręgowców. Najlicniejsza grupa gatunków Trombiculidae pasożytuje na ssakach, głównie na gryzoniach, ale również mogą atakować ludzi, wywołując schorzenia skóry. Dodatkowo, doniesienia na temat transowarialnej transmisji riketsji przez niektórych przedstawicieli Trombiculidae wskazują, że poznanie biologii tej grupy ma również znaczenie dla badań epidemiologicznych. Przedstawiona do oceny praca doktorska stanowi pierwsze kompleksowe opracowanie Trombiculidae na przykładzie gatunków występujących w Polsce. Podjęty przez Doktorantkę temat jest istotny zarówno dla rozwoju akarologii, jak i stanowi wkład do wiedzy o związkach pasożyt-żywicieli.

Ocena formalna

Przedstawiona do oceny praca doktorska jest osiągnięciem naukowym, na które składa się spójny tematycznie cykl pięciu publikacji naukowych, które zostały poprzedzone około 40 stronicowym tekstem, zawierającym uzasadnienie spójności publikacji składających się na pracę doktorską. Tekst ten zawiera wprowadzenie, będące dogłębnym przeglądem stanu wiedzy na temat systematyki, biologii i różnorodności gatunkowej Trombiculidae, następnie Autorka zarysowała tło problemu badawczego, przedstawiła cel pracy i hipotezy badawcze, materiał i metody badań, dyskusję uzyskanych wyników, które raz jeszcze zostały zwięźle podsumowane na końcu omówienia cyklu publikacji. Wszystkie publikacje składające się na pracę doktorską zostały opublikowane w języku angielskim i, poza jedną, w czasopiśmie z listy JCR o łącznym współczynniku wpływu $IF=7,52$ (135 punktów MNiSW).

Wg bazy Scopus prace te do dziś były cytowane 19 razy, co oznacza, że już weszły do obiegu naukowego. Publikacje wieloautorskie zawierają oświadczenia współautorów o ich udziale w powstanie pracy, który nie wynosił więcej niż 20%. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem.

Praca doktorska została przygotowana bardzo starannie. Autorce należą się słowa uznania za dokładną edycję tekstu, wysokiej jakości zdjęcia mikroskopowe i ilustracje. Dwa pierwsze rozdziały, zawarte w omówieniu cyklu publikacji rozpoczynającym pracę doktorską, stanowią dogłębny przegląd literatury (ponad 100 pozycji) dotyczącej wszystkich aspektów taksonomii i biologii Trombiculidae. Zawarte w nich informacje dowodzą, że Doktorantka doskonale zna literaturę przedmiotu. Niestety tekst, który miał pomóc w zrozumieniu celów i znaczenia wyników zawartych w publikacjach składających się na pracę doktorską, wbrew zamierzeniom Autorki, nieco to utrudnił. Prawdopodobnie tekst ten byłby łatwiejszy w odbiorze, gdyby: (1) tabela 1 zawierała również dane o liczbie odłowionych larw, a obok współrzędnych geograficznych Autorka dołączyłaby mapę z zaznaczonymi mezoregionami, w których odławiano żywicieli; (2) dołączono listę gatunków, jakie stwierdzono i badano w doktoracie oraz listę sekwencji opublikowanych w GenBank, (3) niektóre specjalistyczne terminy, np. neosomia, zostałyby wcześniej wyjaśnione. Również zebranie kilku osobno numerowanych fotografii w jednym panelu ze wspólnym podpisem jest nietrafione; należało je połączyć w jedną rycinę z jednym podpisem, a poszczególne zdjęcia z panelu oznaczyć literami. Ponadto w wielu przypadkach w tekście i w podpisach pod zdjęciami występują wyłącznie skrócone nazwy rodzajowe. Zakładam, że określenie "krętki durowe" jest pomyłką redakcyjną.

Ocena merytoryczna

Dotychczas Trombiculidae były badane fragmentarycznie. Heteromorfizm larw w stosunku do aktywnych stadiów postlarwalnych, zmienność morfologiczna larw pasożytujących na różnych żywicielach i ograniczona wiedza na temat stadiów postlarwalnych, przy braku referencyjnych danych molekularnych, powodują potrzebę kompleksowych badań w tej grupie. Takie zadanie postawiła przed sobą Doktorantka: skupiła się na pięciu modelowych gatunkach żywicieli Trombiculidae w Polsce, które były odławiane w reprezentatywnych rejonach geograficznych. Takie podejście pozwoliło uzyskać optymalny materiał badawczy. Wszystkie wyniki, poza molekularnymi, zostały uzyskane na podstawie imponującego materiału: przebadano niemal 8,5 tys. larw zebranych z 344 osobników reprezentujących pięć różnych gatunków gryzoni różniących się trybem życia. Dodatkowy materiał stanowiły osobniki wyhodowane z larw w warunkach laboratoryjnych. W swoich analizach Autorka z powodzeniem stosowała techniki mikroskopowe, hodowlane i po raz pierwszy dla badanych gatunków roztoczy włączyła dane molekularne. Podsumowując, bogaty materiał i odpowiednia metodyka wsparte analizą statystyczną umożliwiły uzyskanie wartościowych wyników na temat szeroko rozumianej biologii Trombiculidae.

Wstępem do zaawansowanych badań było zweryfikowanie danych na temat rozmieszczenia i kręgu żywicieli Trombiculidae w Polsce, uzupełnione przez Autorkę o Jej własne dane z odłowów, i przypisanie dystrybucji roztoczy do standardowych regionów geograficznych Polski. Szkoda, że Autorka nie podała ani w publikacji (Moniuszko i Mąkol, 2014), ani w omówieniu cyklu publikacji, podsumowania liczby potwierdzonych i nowych stanowisk wynikających z Jej badań; moje szacunki na podstawie ręcznego zliczenia oznaczeń [N] w publikacji wskazują, że ten udział był znaczący. W omawianej publikacji brakuje również wyraźnego porównania własnych danych z odłowów z danymi literaturowymi; Doktorantka przedstawiła je dopiero w omówieniu cyklu publikacji: potwierdziła występowanie na gryzoniach pięciu wcześniej notowanych gatunków Trombiculidae z wyraźną dominacją *Hirsutiella zachvatkini*. Jest to jedyna praca z cyklu, która, prawdopodobnie

ze względu na opisową zawartość, została opublikowana w czasopiśmie nieindeksowanym. Niemniej wnosi ona do wiedzy wartościową charakterystykę faunistyczną gatunków Trombiculidae występujących w Polsce na tle ich światowej dystrybucji.

W dalszych badaniach Pani mgr Hanna Moniuszko skupiła się na najliczniej występującym gatunku *H. zachvatkini*. Ponieważ większość gatunków Trombiculidae jest opisywanych na podstawie morfologii larw, postanowiła przetestować hipotezę o kryptycznej specjacji związanej z żywicielem (Moniuszko et al., 2015). W pracy tej wykazała, że chociaż larwy pasożytujące na różnych gatunkach gryzoni różnią się istotnie cechami morfologicznymi, to analiza DNA wskazuje jednoznacznie, że należą do tego samego gatunku. Podobna hipoteza była testowana przy okazji opisu aktywnych form postlarwalnych roztoczy *Neotrombicula vulgaris* wyhodowanych z larw zebranych z dwóch różnych gatunków żywicieli (Moniuszko et al., 2017). Szkoda, że omawiając wyniki w publikacji Doktorantka skupiła się na porównaniu sekwencji COI z gatunków należących do dwóch różnych rodzajów (*N. vulgaris* i *H. zachvatkini*). Zamiast tego należało się skupić na wyniku, który potwierdził konspecyficzną *N. vulgaris* z różnych żywicieli. Nie zmienia to faktu, że wyniki obu prac, wskazujące konspecyficzną larw różniących się morfologią, mają istotne znaczenie dla dalszych badań taksonomicznych Trombiculidae, u których większość gatunków została opisana na podstawie cech morfologicznych larw. Przykładem konieczności podjęcia takich badań jest rodzaj *Neotrombicula*, na co wskazuje Autorka w rozdziale Wyniki i Dyskusja, komentując brak stwierdzeń *N. autumnalis* w kontekście jego podobieństwa morfologicznego do *N. inopinata*.

Dalsze badania dotyczyły oddziaływań pasożyt-żywicieli (Moniuszko i Mąkol, 2016). Modelem były roztocze *H. zachvatkini* obserwowane w warunkach naturalnych i laboratoryjnych (hodowle). Doktorantka wykazała, że larwy występują na żywicielach głównie w okresie jesienno-zimowym i niemal nie występują latem. Oznacza to, że roztocze *H. zachvatkini* pozostają z żywicielem w przedłużonym kontakcie, a opuszczają go na krótki okres przeobrażenia i rozmnażania. Obserwacje stopnia nassania larw wykazały, że zmiany objętości idiosomy *H. zachvatkini* nie wynikają z neosomii, tylko z sukcesywnego rozciągania pofałdowanej kutykuli.

Ostatnia praca cyklu dotyczy wykrycia przypadków współżerowania różnych gatunków Trombiculidae na tym samym osobniku żywicielskim (Moniuszko et al., 2018). Doktorantka stwierdziła występowanie *H. zachvatkini* w koinfekcji z czterema innymi gatunkami Trombiculidae. Rezultaty te wsparły hipotezę o warunkowym charakterze siedliska i szerokim spektrum żywicieli. Co więcej, w trakcie tych badań Doktorantka wykryła molekularnie dwa, prawdopodobnie nieznane dotąd gatunki Trombiculidae. W tym przypadku sporym niedostatkiem publikacji jest brak opublikowania sekwencji DNA nieznanych gatunków; Autorka opisując rezultaty pisze, że ich konspecyficzną z *H. zachvatkini*, *N. vulgaris*, *N. inopinata* i *Miyatrombicula muri* została wykluczona na podstawie analizy DNA, ale opublikowała w bazie danych tylko sekwencje ze znanych gatunków. Dodatkowa uwaga: należy publikować w GenBank sekwencje z osobników zebranych na różnych żywicielach nawet wtedy, jeśli są identyczne, bo jest to cenna informacja dla innych naukowców, którzy zechcą z tych sekwencji skorzystać w swoich badaniach.

Wszystkie prace składające się na rozprawę doktorską zawierają wiele innych szczegółowych obserwacji, które zostały szeroko przedyskutowane w rozdziale Wyniki i Dyskusja. Doktorantka m.in. wskazała na występowanie w Polsce północnej granicy zasięgu *M. muri* i *N. inopinata*, znalazła istotnie statystycznie wyższe zagęszczenie larw na nornicy rudej w porównaniu z innymi żywicielami, potwierdziła konieczność szybkiego rozpoczęcia żerowania larw, aby mogły utrzymać się na skórze żywiciela i zaobserwowała zróżnicowane i zależne od gatunku żywiciela i pory roku preferencje topiczne larw.

W mojej opinii, do najważniejszych wyników pracy doktorskiej należą: (1) opracowanie zasięgów geograficznych i zakresu żywicieli Trombiculidae w Polsce, (2) opisanie nieznanych dla wiedzy, aktywnych form postlarwalnych *Neotrombicula vulgaris*, (3) potwierdzenie danymi molekularnymi występowania tych samych gatunków Trombiculidae na różnych żywicielach, oraz (4) wykazanie występowania współżerowania różnych gatunków Trombiculidae na jednym żywicielu.

Mam kilka uwag dotyczących interpretacji wyników analiz molekularnych, jakie znalazły się omówieniu cyklu publikacji: (1) Zmienność wewnątrzgatunkowa *H. zachvatkini* została zbadana na podstawie danych morfologicznych, dane molekularne jedynie potwierdziły konspecyficzność larw różniących się morfologicznie. Żeby ocenić zmienność wewnątrzgatunkową na poziomie DNA, należałoby zbadać osobniki reprezentujące populacje z różnych rejonów geograficznych. Takie badania prawdopodobnie wykraczały poza ramy tej pracy doktorskiej, ale będą mogły być kontynuowane o ile zebrany materiał nadaje się do analiz DNA. (2) W pracy dotyczącej plastyczności fenotypowej larw (Moniuszko et al., 2015) identyczne haplotypy COI najprawdopodobniej wynikają z tego, że larwy pochodziły z tej samej populacji z Sycowa (bo tam odławiano żywicieli), a nie z historii ewolucyjnej układu pasożyt-gospodarz. (3) Dyskutowanie dystansów genetycznych ma sens tylko na poziomie gatunków: wewnątrzgatunkowy vs inne gatunki w ramach tego samego rodzaju. Dyskutowanie dystansów dzielących gatunki należące do różnych rodzajów jest bezcelowe ze względu na wysokie tempo substytucji mtDNA. Moja ostatnia uwaga dotyczy interpretacji dystansów COI stosowanej w wyróżnianiu gatunków. W omówieniu cyklu publikacji Doktorantka odnosi się do wyników analizy molekularnej *Walchia ewingi lupella* (Kumlert et al. 2018) i stawia hipotezę, z którą nie mogę się zgodzić, że obserwowana przez autorów zmienność w sekwencjach COI może być wynikiem występowania gatunków kryptycznych. Proponuję przedyskutować ten problem w trakcie obrony doktoratu.

Wniosek końcowy

Powyższe uwagi nie wpływają na moją ogólną bardzo wysoką ocenę pracy przedłożonej do recenzji. Uważam, że rozprawa doktorska Pani mgr Hanny Moniuszko wyróżnia się wartością naukową podjętej tematyki, wykazuje warsztatową biegłość Doktorantki, umiejętność prowadzenia badań naukowych, stawiania i dyskusowania hipotez. Świadczy o tym również liczba i ranga publikacji składających się na pracę doktorską, a także ich wejście do obiegu naukowego, odzwierciedlone w cytowaniach. Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późniejszymi zmianami) i wnioskuję do Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pani mgr Hanny Moniuszko do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, ze względu na wysoką wartość naukową rozprawy doktorskiej, potwierdzoną publikacjami, wnioskuję o jej wyróżnienie.

Poznań, 29 kwietnia 2019 r.

Mirosława Dabert