

Warszawa, 21.12.2023

dr hab. Dagny Krauze-Gryz, prof. SGGW
Instytut Nauk Leśnych,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
e-mail:

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Mileny Zduniak zatytułowanej “Inter-individual differences and parasites: effects of host behavior, space use, and physical traits on ectoparasite loads in the yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*)”

Rozprawa doktorska Pani mgr Mileny Zduniak została wykonana na Wydziale Biologii, Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Promotorem rozprawy był dr hab. Rafał Zwolak, prof. UAM.

Rozprawa została przygotowana w formie monotematycznego cyklu złożonego z dwóch publikacji, z których jedna została opublikowana w czasopiśmie *Parasitology Research* (IF 2) a druga jest niepublikowanym manuskrytem. W pierwszej z prac Doktorantka jest wymieniona jako pierwszy autor, jednak z podaniem adnotacji, iż jej udział jest równy z kolejną Autorką (S. Serafini). Doktorantka, wedle deklaracji zamieszczonych w artykule, była zaangażowana na wszystkich etapach powstawania pracy. Drugi rozdział stanowi niepublikowany manuskrypt. Doktorantka wymieniona jest na pierwszym miejscu, wśród czterech autorów pracy. Zgodnie z oświadczeniami zamieszczonymi w dysertacji, Doktorantka jest autorem wiodącym. Oprócz dwóch manuskryptów, stanowiących główne rozdziały pracy, rozprawa opatrzona została streszczeniem w języku polskim i angielskim a także wstępem, w którym bardzo krótko (wręcz zdawkowo) przedstawione jest zagadnienie wpływu różnych czynników na poziom zapasożycenia różnych osobników. W drugiej części wstępu Autorka streszcza treść kolejnych dwóch rozdziałów. Jest to w moim odczuciu niepotrzebne, przypomina bardziej streszczenie, abstrakt niż wstęp do pracy. Oczekiwałamby raczej solidnego teoretycznego tła dla prowadzonych badań, prowadzącego do jasno zdefiniowanego celu pracy. Tymczasem wstęp nie kończy się celem czy celami, które mają zostać zrealizowane. Takie streszczenie mogłoby zostać przedstawione (jako wskazanie najważniejszych wyników) ale niezależnie od wstępu, którego (w klasycznej formie typowej dla dysertacji naukowych) brakuje. Podobnie również zabrakło podsumowania całej dysertacji, która kończy się konkluzjami wynikającymi z rozdziału drugiego. Brakuje natomiast całościowego podsumowania pracy. W tej formie stanowi ona zlepek dwóch (spójnych tematycznie ale jednak odrębnych) prac bez wspólnego początku i końca. W takim podsumowaniu warto by również wskazać kierunki przyszłych badań.

Dysertacja dotyczy bardzo ciekawego zagadnienia jakim jest wpływ różnych czynników na występowanie pasożytów zewnętrznych u drobnych gryzoni. Gatunkiem modelowym była mysz leśna. W ostatnich latach coraz więcej prac odnosi się do poziomu nie populacji, ale do relacji między cechami osobniczymi, osobowością poszczególnych osobników a ich funkcjonowaniem. Takie podejście zastosowano również w niniejszej dysertacji, gdzie Doktorantka poszukuje związku między wewnątrzgatunkowymi cechami takimi jak masa ciała, płeć, ale również różnicami behawioralnymi a stopniem zapasożycenia poszczególnych osobników. Pracę przeczytałam z dużym zainteresowaniem, nie ukrywam, że pokrywa się ona z moimi zainteresowaniami badawczymi ale też doskonale wpisuje się w aktualne trendy badawcze.

Do mocnych stron pracy należy z pewnością zastosowane eksperymentalne podejście (wykorzystanie testu otwartego pola, redukcja stopnia zaposożecenia), dobrze zaplanowane i przeprowadzone analizy statystyczne, jasno opisane hipotezy. Wyniki przedstawione są niezwykle klarownie. Nie ma wątpliwości co i jak zostało zrobione. Duże wrażenie robi nakład pracy, tzw. „sampling effort”. Jednocześnie wykorzystywano 600 pułapek do odłowu drobnych gryzoni (6 powierzchni po 100 pułapek każda, łącznie 30 000 pułapokodni! To ogrom pracy!). To pozwoliło na zebranie odpowiednio dużych prób, których wielkość dała możliwość testowania hipotez badawczych.

W rozdziale pierwszym Autorka skupiła się na zależnościach między poziomem zapasożycenia kleszczami i pchłami a płcią i masą ciała żywiciela. W rozdziale drugim Doktorantka poszukiwała natomiast zależności między zachowaniem żywiciela a obciążeniem pasożytami. Różnice behawioralne oceniane były za pomocą tzw. testu otwartego pola, metody powszechnie wykorzystywanej w badaniach laboratoryjnych ale i w czasie badań terenowych drobnych i średnich (np. wiewiórek) gryzoni. Uzyskane wyniki odnoszone były również do danych zebranych dzięki połowom i odnoszącym się do liczby złowień czy liczby pułapek, w których rejestrowane były poszczególne osobniki. Bardzo dobrze, że połączono te dwa podejścia gdyż wiarygodność częstości złowieni (*trappability*) jako wskaźnika behawioralnych cech osobniczych jest przez niektórych badaczy dyskutowana. Bardzo ciekawym elementem było celowe, eksperymentalne zmniejszenie stopnia zapasożycenia części osobników w drodze zastosowanej kuracji przeciw pasożytniczej. To odważne podejście, które pozwoliło pokazać, że wbrew oczekiwaniom, spadek poziomu obciążenia pasożytami nie miał wpływu na wyniki testu otwartego pola ani na ruchliwość. Zmienił się jedynie wskaźnik częstości złowień.

Opis metodyki, sposobu zbierania danych przedstawiony w rozdziałach I i II jest w pełni wyczerpujący. Pozwala na powtórzenie eksperymentu. Oba rozdziały bazują, częściowo, na tym samym materiale badawczym. Dlatego moją uwagę zwrócił fakt, iż w I rozdziale kleszcze i pchły zbierane były z tych samych osobników wielokrotnie i na tej podstawie oceniano stopień zapasożycenia. Według informacji zamieszczonej na stronie 22 (rozdział 2) stopień zapasożycenia oceniany był tylko przy pierwszym złapaniu. Doktorantka argumentuje, iż celowe usuwanie pasożytów mogło mieć wpływ na później otrzymane wyniki (stopień zapasożycenia). To podejście wydaje się słuszne. Zastanawia mnie wobec tego dlaczego nie było ono takie samo w obu pokazanych pracach.

Kolejnym utrudnieniem w odbiorze pracy był dla mnie brak jasnej informacji o liczbie złapanych osobników myszy leśnej (łącznie), liczbie tzw. retrapów. Zabrakło też wyjaśnienia dlaczego liczba prób kleszczy i pcheł pobranych od myszy była różna (część wyników, rozdział 1). Czy np. część osobników miała tylko kleszcze a nie miała pcheł? A może to „wypadki przy pracy” gdy mysz ucieka zanim skończy się cała procedura? To oczywiście nie jest niezbędne ale takie zestawienie, np. w formie tabeli bardzo by pomogło. Z drugiej strony pierwszy akapit wyników rozdziału nr 1 podaje bardzo szczegółowe dane o strukturze gatunkowej złapanych drobnych gryzoni i drobnych ssaków w ogóle. To wydaje się zbędne. Tym bardziej, że w tym samym akapicie napisane jest: „In total, we captured 1873 mice...”. I nie jest wyjaśnione czy chodzi tylko o mysz leśną czy także o (wymienioną również wcześniej) mysz polną.

Cały rozdział nr 1 napisany jest bardzo dobrze, klarownie. Sam schemat badań jest dobrze przedstawiony. Wyniki dogłębnie przedyskutowane. Szukając elementów do których mogłabym mieć zastrzeżenia zwracam uwagę na rycinę 3. Jest ona zdecydowanie mało czytelna a mikroskopijne kółeczka i trójkąty odnoszące się do pcheł i kleszczy trudne do dostrzeżenia. To jednak niewielka uwaga a całościowy odbiór tej pracy jest bardzo pozytywny.

Drugi rozdział ma układ typowego manuskryptu, praca jest w zasadzie (po drobnych korektach) gotowa do publikacji. To bardzo ciekawa, kompleksowa analiza zależności między zachowaniem żywiciela a występowaniem u niego pasożytów zewnętrznych. Wstęp jest wyczerpujący, prowadzi do jasno zdefiniowanych czterech celów badawczych. Następnie przedstawione zostały szczegółowe założenia pracy, wraz z odniesieniami do literatury. Co więcej w pracy umieszczono również prosty diagram, prezentujący oczekiwane zależności między występowaniem pasożytów zewnętrznych a zachowaniem osobników czy wykorzystaniem przez nie przestrzeni. Metodyka opisana jest bardzo dokładnie. Dobrze, że znalazły się tu również takie szczegóły jak informacja o dezynfekcji pudła wykorzystywanego w teście otwartego pola czy każdorazowej wymianie woreczków do przetrzymywania gryzoni. To szczegóły, ale pozwalają innym badaczom prowadzącym podobne badania stosować właściwe praktyki.

W tym miejscu chciałam wyrazić moją wątpliwość odnośnie stosowanych kolczyków. Znam dokładnie ten model, faktycznie opisywany jako model dla myszy, wykorzystywałam te kolczyki w badaniach nad wiewiórkami. Czy nie były one zbyt duże w stosunku do wielkości ucha myszy? I czy uszy nie są zbyt delikatne, te kolczyki są jednak dosyć masywne.

Kolejne pytanie dotyczy standaryzacji zbioru prób kleszczy czy pcheł. Zgodnie z opisem metodyki, pasożyty zbierane były z całego ciała. Ich liczba była miarą stopnia zapasożycenia. Czy doświadczenie badacza (sprawność w wyszukiwaniu, łapaniu i usuwaniu z ciała pasożytów), takie cechy jak np. dobry wzrok, ale również cechy poszczególnych osobników myszy (wszak jedne są bardzo spokojne a inne „walczą”) mogły mieć wpływ na otrzymane wyniki? Rozumiem przez to, że liczba zebranych pasożytów mogła być zależna od czasu jaki poświęcono na tę czynność. Czy nie lepiej, bardziej obiektywnie byłoby wybrać jakiś fragment ciała do szczegółowej inspekcji?

Rozdział wyniki podzielony jest podrozdziały odnoszące się do kolejnych zagadnień odpowiadających stawianym celom i założeniom. To dobry zabieg, bardzo ułatwiający odbiór. Tabele podsumowujące wyniki modeli GLMM klarownie obrazują uzyskane wyniki. Podobnie ryciny. Bardzo czytelna, świetnie podsumowująca całość uzyskanych wyników jest tabela 13, zamieszczona na początku rozdziału Dyskusja.

Moje wątpliwości budzi natomiast rycina 5. Obrazuje ona zmiany zagęszczenia pcheł w kolejnych latach i miesiącach. Uwzględniono również dane z roku 2020, gdy przeprowadzano eksperymentalną kurację przeciw pasożytniczą. Można się więc spodziewać, że wartości te będą wyraźnie mniejsze. Czy wykorzystano tu tylko te osobniki, u których nie stosowano kuracji. Z drugiej strony czy samo zastosowanie parafiny nie mogło mieć (choćby niewielkiego) wpływu na obecność pasożytów. Choćby ze względu na jej właściwości fizyczne (zapach, jest tłusta).

Sam rozdział Dyskusja został podzielony na tematycznie odrębne podrozdziały, odpowiadające kolejnym zagadnieniom. Doktorantka sprawnie podsumowuje i interpretuje wyniki, odnosząc się do danych literaturowych. Rozdział ten jest dość zwięzły ale generalnie to jego zaleta, Doktorantka unika zbędnego przeglądu literatury, przytaczając jedynie te wyniki innych autorów, które faktycznie korespondują z treścią rozdziału. Miejscami tekst ten jest jednak aż nazbyt zwięzły. Przykładowo na str. 43 zależności (a raczej jej brakowi) między mobilnością poszczególnych osobników a tendencją do eksploracji Doktorantka poświęciła jedno zdawkowe zdanie. Oczekiwałam nieco szerszej dyskusji w tym miejscu. Generalnie jednak uważam ten rozdział za bardzo sprawnie napisany.

Uwagi techniczne:

- str. 9: kolejność przytaczanych prac jest niechronologiczna
- na str. 16 pojawia się pojęcie „trap overlap”. Zostaje ono wyjaśnione znacznie później. Tu również warto by zamieścić choć krótkie wyjaśnienie co kryje się pod tym pojęciem.
- w kilku miejscach pojawiają się niedociągnięcia edytorskie – tzw. literówki, zbędne wielkie litery albo ich brak na początku zdania
- Na pochwałę zasługuje natomiast fakt, iż Doktorantka zadbała o to by wszystkie podpisy rycin czy tytuły tabel były wyczerpujące i samo objaśniające. W żadnym momencie nie miałam wątpliwości co dana rycina czy tabela przedstawia.

Podsumowując, stwierdzam, iż rozprawa doktorska Pani mgr Mileny Zduniak zasługuje na wysoką ocenę. Doktorantka wykazała się dobrą znajomością literatury tematu badań. Pokazała iż, bazując na wcześniejszych wynikach badań, potrafi zaplanować ciekawy i złożony eksperyment terenowy a jego wyniki opracować z użyciem odpowiednich technik statystycznych. Nakład pracy jest ogromny. Zebrane wyniki podstawowe można by przedstawić w formie licznych wykresów, które w praktyce nie przekazywały by wielu informacji. Doktorantka nie uległa tej pokusie, prezentując samą esencję zebranych danych. To co było tu najważniejsze, czyli zależności między zmiennymi, których

istnienie lub ich brak potwierdziła przy użyciu odpowiednich metod statystycznych. Świadczy to o dojrzałości naukowej Doktorantki. Wyniki zostały już opublikowane lub są zasadniczo gotowe do publikacji w dobrym, międzynarodowym czasopiśmie. Nieliczne uwagi i zastrzeżenia przedstawione w niniejszej recenzji pomogą, mam nadzieję, przygotować manuskrypt do złożenia do redakcji. Całościowa ocena dysertacji jest jednoznacznie pozytywna.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Mileny Zduniak spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie mgr Mileny Zduniak do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Olga Gryn
Warszawa, 21.12.2023