WYDZIAŁ NAUK BIOLOGICZNYCH
ZAKŁAD BIOLOGII, EWOLUCJI I OCHRONY BEZKRĘGOWCÓW
Pracownia Biologii i Entomologii Sądowej
ul. S. Przybyszewskiego 65
51-148 Wrocław
tel. +48 71 375 63 85
www.zbeob.uni.wroc.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej
lek. wet. Remigiusza GAŁĘCKIEGO

pt. „Strzyżaki (*Lipoptena* spp.) jako potencjalny wektor chorób zakaźnych ludzi i zwierząt – znaczenie epizootyczne na terenie Polski"

wykonanej pod kierunkiem dra hab. Tadeusza BAKUŁY, prof. UWM (promotor)
w Katedrze Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
w oparciu o zbiór wcześniejszych publikacji

Podstawa formalne wydania opinii/recenzji:

- *art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2023 r., poz. 742).*
- *Uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z 12 czerwca 2023 r.*
- *Praca doktorska – rozprawa w postaci wydruku obejmująca cykl czterech, powiązanych tematycznie publikacji naukowych:*

GAŁĘCKI, R., JAROSZEWSKI, J., XUAN, X., & BAKUŁA, T. (2020). Temporal-microclimatic factors affect the phenology of Lipoptena fortisetosa in central European forests. Animals, 10(11), 2012.

GAŁĘCKI, R., XUAN, X., BAKUŁA, T., & JAROSZEWSKI, J. (2021). Molecular Characterization of Lipoptena fortisetosa from Environmental Samples Collected in North-Eastern Poland. Animals, 11(4), 1093.

GAŁĘCKI, R., JAROSZEWSKI, J., BAKUŁA, T., GALON, E. M., & XUAN, X. (2021). Molecular Detection of selected pathogens with zoonotic potential in deer keds (Lipoptena fortisetosa). Pathogens, 10(3), 324.

GAŁĘCKI, R., JAROSZEWSKI, J., BAKUŁA, T., & XUAN, X. (2021). Molecular characterization of Lipoptena cervi from environmental samples collected in Poland. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife, 14, 41-47.

OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA ROZPRAWY

UWAGI OGÓLNE

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pana lek. wet. Remigiusza GAŁĘCKIEGO stanowi zbiór czterech oryginalnych artykułów naukowych opublikowanych w języku angielskim w latach 2020-2021 na łamach czasopism o zasięgu międzynarodowym, takich jak *Animals* (dwie prace, Q1, 100 pkt[1]), *Pathogens* (Q2, 100 pkt[1]), *International Journal for Parasitology* (Q1, 100 pkt[1]).

Całość, włączając okładkę, stronę tytułową, spis treści, podziękowania oraz oświadczenia współautorów, liczy 132 strony.

Poszczególne zagadnienia rozprawy zostały podzielone na 12 głównych rozdziałów, w których, o ile było to uzasadnione, zostały wyróżnione także podrozdziały.

Zaproponowany porządek ma układ typowy dla tego typu opracowań, a więc zawiera streszczenie w języku polskim (st. 7) i angielskim (str. 9), wykaz skrótów (str. 11), wprowadzenie (str. 12), materiały i metody (str. 24), wyniki (str. 32), dyskusję (str. 56), aspekt wdrożeniowy (str. 63), podsumowanie (str. 65), wnioski (str. 67), literaturę (str. 68), w końcu oświadczenia współautorów (str. 77) oraz artykuły wchodzące w skład rozprawy doktorskiej (str. 82).

Pan Remigiusz GAŁĘCKI jest **pierwszym autorem we wszystkich czterech** pracach przedłożonych do oceny. We **wszystkich** pełnił dodatkowo funkcję autora korespondencyjnego (por. rozdz. *12. Artykuły wraz z oświadczeniami współautorów,* str. 77).

Na wyróżnienie zasługuje fakt **zasadniczego** i **największego** wkładu pracy w powstanie powyższych publikacji, o czym wiemy z oświadczeń współautorów (por. rozdz. *12. Artykuły wraz z oświadczeniami współautorów,* str. 77), którzy jednomyślnie to stwierdzają oraz z *„Author contributions"* podanego w trzech na cztery publikacjach.

Wszystkie przedstawione mi do oceny teksty stanowiące rdzeń rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w czasopismach naukowych posiadających tzw. współczynnik wpływu (*impact factor* - IF). Są one oparte o licencję *open access*.

Trzy z czterech publikacji opublikowano w czasopismach zaliczanych do **pierwszego kwartyla (Q1)**[2].

Łączna liczba punktów ministerialnych dla opublikowanych prac wynosi **400**, zaś łączny IF = **11,241** (por. str. 3).

Ponadto efektem podjętych badań są dwa zgłoszenia patentowe o numerach P.439829 oraz P.439910 (por. str. 3, 129-132).

Doktorant, mimo krótkiego stażu naukowego, w mojej ocenie posiada już znaczący dorobek naukowy. Dowodzą tego podstawowe wskaźniki nauko-metryczne, takie jak indeks HIRSCHA wynoszący 10[3] oraz liczba cytowań (w sumie 287[3]). Obecnie publikacyjny dorobek naukowy obejmuje 34 pozycje, w tym 19 oryginalnych prac oraz 13 przeglądowych[3]. Na swoim koncie ma już siedem zgłoszeń patentowych oraz udział w czterech projektach badawczo-rozwojowych finansowanych z zewnętrznych źródeł.

Powyższe wyniki stanowią bardzo dobry prognostyk dalszego rozwoju Pana Remigiusza GAŁĘCKIEGO. Zakładam, że będzie on nadal rozwijał swój potencjał naukowy podejmując dalsze badania.

[1] Wg *Załącznika* do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 17 lipca 2023 r.
[2] Stan na 29 lipca 2023 wg *Web of Science* (WoS).
[3] Stan na 17 sierpnia 2023 wg programu *Publish or Perish.*

UWAGI SZCZEGÓŁOWE

Tematyka, problem naukowy, cele i zakres rozprawy doktorskiej

Wiedza na temat organizmów, które nawet potencjalnie mogą stanowić wektory chorobotwórczych mikroorganizmów jest powszechnie ceniona i oczekiwana. Zapotrzebowanie na tego typu badania związane jest nie tylko z lepszym rozumieniem mechanizmów przenoszenia czynników chorobotwórczych, ale także podejmowaniem działań prewencyjnych.

Badania o takim profilu nie należą do łatwych – wymagają bowiem od badacza nie tylko znajomości biologii i ekologii badanego taksonu, ale także gruntownej wiedzy ogólnej oraz warsztatu obejmującego zarówno umiejętność obsługi specjalistycznego sprzętu oraz znajomość aktualnych metod badawczych.

Podjęte przez Doktoranta badania wpisują się w potrzebę współczesnego świata, zwłaszcza w zakresie pogłębiania naszej wiedzy w zakresie wektorów chorób zakaźnych ludzi i zwierząt.

W rozdziale 4 pt. „*Wprowadzenie*" autor w czytelny sposób przedstawił wątki obejmujące współczesną systematykę Hippoboscidae, w tym objętego badaniami rodzaju *Lipoptena* NITZSCH, 1818. Nie będąc taksonomem, dochował zasad wynikających wprost z rekomendacji *Międzynarodowego Kodeksu Nomenklatury Zoologicznej* dotyczących zapisu nazw rodzajów i gatunków kursywą oraz podawania autora oraz daty przy pierwszym przywołaniu nazwy konkretnego taksonu. Wartościową częścią tego rozdziału są także informacje nt. etymologii nazw gatunkowych Hippoboscidae. Autor nie tylko wykonał pracę, by dotrzeć do źródeł (dawnych i współczesnych) nawiązujących do tych muchówek, ale także w sposób klarowny, a jednocześnie interesujący zaprezentował ten aspekt w przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej. Tu także wykazał się znajomością w zakresie występowania strzyżaków, cech morfologicznych, biologii i fenologii oraz znaczenia tych owadów w medycynie. W rozdziale tym podjął się obszernego uzasadnienia podjętych przez siebie badań oraz wskazał na ich potencjał wdrożeniowy. Podpierając się literaturą wykazał luki w wiedzy oraz obszary wymagające pogłębionych badań, zwłaszcza w odniesieniu do *Lipoptena fortisetosa* MAA, 1965. Sformułował cztery zadania badawcze (= cele), które krótko scharakteryzował.

Uwaga polemiczna: w mojej ocenie włączone do tego rozdziału „*Cele badawcze*" można byłoby wydzielić w osobny rozdział i wesprzeć dodatkowo hipotezą/hipotezami badawczymi. Proponowałbym też przesunięcie treści opisujących efekty pracy do „*Podsumowania"*.

Rozdział 5 pt. „*Materiały i metody*" Doktorant szczegółowo opisał zastosowany przez siebie warsztat obejmujący zarówno pozyskiwanie owadów w terenie, identyfikację do poziomu gatunku, jak też analizę statystyczną oraz analizy molekularne zebranego przez siebie w terenie materiału. Zbierał go także, tu cyt. *„(…) z ciał martwych lub żywych jeleniowatych"* (por. str. 30, podrozdział 5.4.). Tu nasuwają się pytania - czy strzyżaki do analiz pochodziły z osobników z odstrzałów sanitarnych lub odłowionych w okresach pozyskania łowieckiego? Jak pobierano materiał z żywych jeleniowatych?

Informacje zaprezentowane w tym rozdziale są uporządkowane. Co warte podkreślenia przedstawione treści poparte są licznymi cytowaniami, co dodatkowo uwiarygadnia rozeznanie Doktoranta w obrębie podjętego tematu badań. Takie podejście dowodzi dobrego przygotowania od strony warsztatowej, co w nauce, ma ogromne znaczenie. Niemniej jednak zasadnym wydaje się rozwinięcie w podrozdziale 5.1.1 „*Pobieranie próbek*" czynników wpływających na aktywność

strzyżaków (patrz str. 24, wskazanie na MADSLIEN i in. 2012), które w obecnej wersji pozostają nieznane dla większości niespecjalistów.

Rozdział 6 pt. „*Wyniki*" prezentuje szczegółowe dane poparte rycinami oraz tabelami. Autor opisuje zaobserwowane przez siebie korelacje między aktywnością badanej muchówki a czynnikami takimi jak temperatura, wilgotność, ciśnienie atmosferyczne czy siła wiatru. Charakteryzuje też badane taksony od strony molekularnej. Podaje też patogeny o potencjale zoonotycznym zidentyfikowane na podstawie testów molekularnych. Ta część pracy koreluje z założonymi celami badawczymi, co znajduje swoje odzwierciedlenie w kolejnym rozdziale pt. „*Dyskusja*".

Rozdział 7 pt. „*Dyskusja*" dowodzi umiejętności Doktoranta do konfrontacji własnych wyników z opublikowanymi badaniami innych naukowców, a także na umiejętność łączenia faktów i zdolność do wskazywania obszarów dalszych badań. W rozdziale tym Autor odnosi się do zagadnień z zakresu fenologii, genetyki populacyjnej oraz znaczenia *Lipoptena* spp. w medycynie weterynaryjnej jako wektorów mikroorganizmów chorobotwórczych. Zalecałbym jednak nieco inną organizację treści tego rozdziału omawiającą poszczególne wątki najpierw dla *Lipoptena fortisetosa* potem dla *L. cervi* lub włączenie do dyskusji podrozdziałów ułatwiających uporządkowanie omawianych zagadnień. Rekomendowałbym też podjęcie wątku porównania *L. cervi* z *L. fortisetosa* w zakresie przenoszonych przez nie patogenów. Dobrym sposobem na to byłaby tabela zbierająca takie dane w jednym miejscu, umożliwiając tym samym czytelnikowi szybką ocenę roli obu gatunków jako wektorów patogenów. Dane takie Autor zestawił w tabeli 12 (patrz str. 48) dla *L. fortisetosa.* To rozwiązanie wpisywałoby się w intencję Autora wyrażoną w tytule rozprawy. W „*Dyskusji*" Autor napisał, że tu cyt.: „*Żaden z przebadanych gatunków nie charakteryzował się istotnymi różnicami w proporcji płci. (…). Stosunek płci Lipoptena spp. zamieszkujących gospodarza może jednak różnić się od odnotowanych w tym badaniu ze względu na potencjalnie krótszą długość życia samców (Marshall, 1981)*". Od czego jeszcze poza długością życia samców może zależeć różnica stosunku płci u *Lipoptena* spp.? Proszę także wymienić znane Doktorantowi czynniki wpływające na dynamikę/intensywność infestacji *Lipoptena* spp.

Rozdział 8 pt. „*Potencjał wdrożeniowy*" uważam za bardzo pozytywny skutek badań zaprezentowany w rozprawie doktorskiej. W rozdziale tym Autor przedstawił dwa wynalazki, takie jak: 1) zastosowanie strzyżaków jako biologicznych markerów chorób przenoszonych przez wektory u jeleniowatych oraz 2) pojemniki do przetrzymywania i transportu badanych ektopasożytów ze środowiska naturalnego. Ta część uwydatnia zdolność kandydata do stopnia naukowego doktora do prowadzenia badań naukowych, a potem publikowania wyników, ale także do innowacyjnego myślenia w zakresie praktycznego ich wykorzystania. Dziś takie podejście jest cenne z uwagi na wymagania jakie adresowane są do naukowców ze strony otoczenia społeczno-gospodarczego oraz dysponentów źródeł finansowania badań.

W rozdziale 9 pt. „*Podsumowanie*" Autor syntetycznie zebrał informacje nt. badanych gatunków strzyżaków, wskazując jednocześnie potrzebę dalszych, pogłębionych badań w zakresie genetyki populacyjnej oraz możliwego wykorzystania tych muchówek jako markera biologicznego do identyfikacji patogenów. W odniesieniu do strony edytorskiej zalecałbym podawanie cytacji wg dat rosnąco, a nie jak to ma miejsce w tekście wg alfabetu (np. str. 21, por. BEZERRA-SANTOS & OTRANTO, 2020; REGIER et al., 2018).

W rozdziale 10 pt. „*Wnioski*" Doktorant sformułował 15 tez o charakterze wniosków. Mimo, że rozumiem intencję Autora, jednak polemizowałbym z terminem „szkodnik", ponieważ w biologii taki termin nie funkcjonuje. Gatunki zajmują konkretne siedliska, do których są lepiej lub gorzej przystosowane. Raczej użyłbym sformułowania takson o negatywnym potencjale np.

ze względu na gospodarkę łowiecką. W tym miejscu nasuwa się pytanie, w jaki sposób Autor łączy wpływ *L. fortisetosa* na leśnictwo (por. pkt. 1, str. 67).

Rozdział 11 pt. „*Literatura*" stanowi wykaz 150 pozycji, które zostały wykorzystane przez Doktoranta na poparcie opisywanych tez. Dobór wyżej wymienionych źródeł uważam za poprawny. Autor powołał się na prace zarówno z zakresu taksonomii, faunistyki badanych taksonów, ale także przywołał prace z zakresu parazytologii, genetyki i epidemiologii.

WNIOSKI

Oryginalność badań

Stwierdzam, że przedłożone mi do oceny wyniki badań stanowią **oryginalny wkład** do lepszego poznania strzyżaków z rodzaju *Lipoptena* spp. (zwłaszcza *L. fortisetosa*) jako potencjalnych wektorów chorób zakaźnych ludzi i zwierząt.

Wyniki badań wstępnych opisanych przez Doktoranta stanowią cenne źródło informacji w zakresie samej fenologii oraz dystrybucji badanego gatunku *Lipoptena fortisetosa* w północno-wschodniej Polsce. Dodatkowym walorem są badania molekularne w zakresie genetyki populacji *Lipoptena* spp. oraz badania nad patogennymi mikroorganizmami związanymi z badaną muchówką *L. fortisetosa*.

Poprawność redakcyjna rozprawy

Rozprawa doktorska jest napisana zwięzłym stylem. Treści zostały przedstawione w czytelny sposób, bez zbędnych ozdobników, a co najważniejsze, w zrozumiałej dla odbiorcy formie. Zdarzają się drobne potknięcia, głównie w postaci tzw. „literówek", zazwyczaj trudnych do wychwycenia przez Autora rozprawy. Miejscami Doktorant, moim zdaniem niepotrzebnie, stosuje podwójną cytację [np. str. 65, por. tu cyt. „według KURINA i in. (KURINA et al., 2019)"]. Oczywiście takie drobiazgi nie wpływają na ocenę końcową wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej.

Autor poprawnie, a przede wszystkim w przemyślany sposób, zastosował tabele, grafiki i ryciny uzupełniające tekst.

W przedstawionym do oceny egzemplarzu zadbał o wysokiej jakości grafiki, w tym kolorowe wydruki, które znacząco ułatwiły interpretację wyników.

Wartość merytoryczna i naukowa

Niewątpliwie opublikowane prace (w tym rozprawa doktorska) są wartościowe, ponieważ **znacząco uzupełniają** i jednocześnie **rozszerzają** wiedzę na temat potencjału strzyżaków, jako wektorów chorób zakaźnych ludzi i zwierząt. Ma to szczególne znaczenie w przypadku *Lipoptena fortisetosa* – gatunku obcego o inwazyjnym potencjale dla dobrostanu zwierząt, łowiectwa czy ludzi.

Badania Doktoranta dowiodły, że populacje *L. fortisetosa* w Europie Środkowej mają różne linie genetyczne. Zidentyfikowane sekwencje wskazują, że populacja *L. fortisetosa* rozprzestrzenia się pomimo ograniczeń geograficznych. Przeprowadzone analizy ujawniają zmienność

genetyczną w genie 16S rRNA populacji *L. fortisetosa* i *L. cervi* w wybranych województwach Polski.

Ponadto, w obszarze objętym badaniami Doktorant stwierdził dwa dominujące haplotypy *L. cervi*, obecne także w innych krajach Europy Środkowej, a lokalne haplotypy wykrył jedynie w pojedynczych przypadkach. Wykazał, że częstość występowania i liczba gatunków badanych patogenów były niższe u skrzydlatych owadów, niż u osobników pobranych od jeleniowatych. W odniesieniu *L. fortisetosa* Doktorant wykazał materiał genetyczny *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia* spp., *Bartonella* spp., *Borellia* spp., *Coxiella*-like endosymbionts, *Francisella tularensis*, *Mycoplasma* spp., *Rickettsia* spp., oraz *Theileria* spp. Warto podkreślić, że są to pierwsze badania, które potwierdziły materiał genetyczny *Babesia* spp. u *L. fortisetosa*.

Podsumowując, Autor wykazał się umiejętnością:

a) wprowadzenia w tematykę badawczą;
b) udowadniania zasadności podejmowanych badań;
c) doboru metod badawczych i narzędzi do analizy danych;
d) przedstawienia wyników;
e) krytycznej analizy wyników i ich interpretacji na tle literatury przedmiotu;
f) poprawności formułowania wniosków.

Ponadto Doktorant udowodnił, że jest zdolny do zauważania i wydobywania potencjału wdrożeniowego, czego przykładem są dwa zgłoszenia patentowe.

OCENA KOŃCOWA – KONKLUZJA

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia ustawowe wymogi (Dz. U. 2023 r., poz. 742). Po pierwsze prezentuje oryginalną wiedzę kandydata w zakresie wybranej przez niego dyscypliny, po drugie dowodzi umiejętności realizowania przez Doktoranta pracy naukowej, po trzecie stanowi zbiór czterech powiązanych tematycznie artykułów naukowych.

W związku z powyższym stwierdzam, że rozprawa doktorska pt. „Strzyżaki (*Lipoptena* spp.) jako potencjalny wektor chorób zakaźnych ludzi i zwierząt – znaczenie epizootyczne na terenie Polski" spełnia warunki określone art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. 2023 r., poz. 742) i wnioskuję o dopuszczenie lek. wet. Remigiusza GAŁĘCKIEGO do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę znaczenie i walor naukowy tej rozprawy (patrz uwagi powyżej w sekcji „*Wartość merytoryczna i naukowa*"), wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie **o jej wyróżnienie**.

Marcin Kadej

Wrocław, 17 sierpnia 2023 r. Dr hab. inż. ***MARCIN KADEJ,*** prof. UWr