Puławy, 1 czerwca 2021 r.

Prof. dr hab. Tomasz Cencek
Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych
Państwowego Instytutu Weterynaryjnego
-Państwowego Instytutu Badawczego
w Puławach

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej pt. „Wpływ populacji *Dermanyssus gallinae* na poziom kortykosteronu u kur niosek oraz jej różnorodność genetyczna" wykonanej w Katedrze Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod kierunkiem opiekuna naukowego prof. dr hab. Rajmunda Sokoła i promotora pomocniczego dr n. wet. Marii Michalczyk. Praca realizowana jest wg przepisów ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789), w związku z art. 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 30 sierpnia 2018 r., poz 1669 ze zm.)
Podstawę formalną recenzji stanowi uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 30 kwietnia 2021 r.

Olsztyński ośrodek parazytologiczny od wielu lat specjalizuje się w badaniach nad roztoczem *Dermanyssus gallinae*. Prace w tym zakresie ponad 20 lat temu rozpoczął profesor Konstanty Romaniuk wspólnie z (wówczas asystentem) dr Rajmundem Sokołem. Od samego początku badania te miały charakter bardzo praktyczny i dotyczyły oceny szkodliwości inwazji roztoczy, sposobów oceny intensywności inwazji oraz sposobów walki z tymi pasożytami. Badania te zaowocowały szeregiem publikacji zarówno typowo naukowych jak i popularnonaukowych, a także pracą doktorską lek. wet. Arkadiusza Szkamelskiego „Ocena przebiegu i zwalczania inwazji *Dermanyssus gallinae* w przemysłowej fermie kur niosek", której promotorem był prof. dr hab. Rajmund Sokół oraz patentem dotyczącym metody oceny intensywności inwazji *D. gallinae* w kurnikach (metoda wykorzystana również w recenzowanej pracy doktorskiej).

To co łączyło te badania to według mnie sposób ich prowadzenia. Większość tych badań wykonywana była bowiem w przemysłowych fermach drobiu. Ten sposób prowadzenia prac nadaje im walor swoistej autentyczności. Doświadczenia prowadzone są w rzeczywistych warunkach panujących w kurnikach, a nie w wyidealizowanych warunkach laboratoryjnych. W warunkach laboratoryjnych bardzo trudne, lub wręcz niemożliwe jest wymodelowanie wszystkich czynników istniejących w kurnikach i mogących mieć wpływ na obserwowane parametry/zjawiska. Przysparza to oczywiście jednocześnie problemów w planowaniu

doświadczeń, zbieraniu wyników i co najważniejsze w ich analizie. Wpływ różnych czynników pojawiających się w warunkach naturalnych kurnika powoduje, że uzyskiwane wyniki często nie są tak spektakularne jak uzyskane w laboratorium. Współistniejące uwarunkowania mogą maskować wystąpienie oczekiwanego efektu lub nawet całkowicie go ukryć, przez co wyciągane wnioski mogą stać się dyskusyjne. Analiza tak uzyskanych wyników jest bardzo trudna i wymaga od badacza dogłębnej wiedzy nie tylko w obszarze bezpośrednio dotyczącym przedmiotu analiz.

W ten nurt wpisuje się również praca doktorska mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej pt. „Wpływ populacji *Dermanyssus gallinae* na poziom kortykosteronu u kur niosek oraz jej różnorodność genetyczna".

Przedstawiony do oceny manuskrypt liczy 87 stron. Układ pracy jest typowy dla tego typu opracowań. Po nienumerowanych stronach tytułowych, na stronie nr 1 Autorka zawarła wykaz skrótów, po czym na 4 kolejnych stronach streszczenie pracy w języku polskim i angielskim. Obszerny Wstęp zajmuje 18 stron maszynopisu i zawiera 10 podrozdziałów. W rozdziale Cel badań Doktorantka na 2 stronach maszynopisu sformułowała zarówno cel, który przyświecał jej przy wykonywaniu pracy jak również podział pracy na 3 doświadczenia i podała realizowane w każdym z nich zadania badawcze. Kolejne 9 stron pracy zajmuje część Materiał i metody podzielona na podrozdziały wg numerów doświadczeń. Podobnie pogrupowane są Wyniki zajmujące łącznie 26 stron pracy. Rozdział Dyskusja zajmuje 11 stron, a Wnioski 1 stronę. Liczący 140 pozycji rozdział Piśmiennictwo zawarty został na 14 stronach manuskryptu. Wyniki prezentowane są w 12 numerowanych tabelach i na 16 rycinach. Praca jest przygotowana bardzo starannie, edytorsko bez zarzutu.

Tak jak wspomniałem wyżej, praca doktorska mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej w większości opiera się na doświadczeniach prowadzonych w fermach przemysłowych kur niosek. Doświadczenia te (Doświadczenie I oraz Doświadczenie II) stanowią silnie wyodrębniającą się część pracy, a drugą niezależną stanowi Doświadczenie III dotyczące badania zróżnicowania genetycznego ptaszyńców w kurnikach w Polsce. Według mnie każda z tych części mogłaby stanowić osobną pracę, a łączenie ich jednym tytułem jest trudne (tytuł pracy doktorskiej mylnie sugeruje, że badania różnorodności genetycznej i poziomu kortykosteronu wykonywane są w tej samej populacji).

W rozdziale Wykaz skrótów Autorka zawarła opis wprowadzonych przez siebie skrótów. Ułatwia to znacznie odbiór pracy, chociaż objaśnienie „*D. gallinae* - *Dermanyssus gallinae*" wydaje mi się całkowicie zbędne, a użycie objaśnień dla grup K1, K3, K4 jako grup

badawczych - błędne semantycznie (są to grupy badane, eksperymentalne lub doświadczalne). Z kolei grupa K2 nie jest grupą kontrolną o czym w dalszej części oceny.

Streszczenie napisane zostało w sposób klarowny i czytelnik po zapoznaniu się z nim uzyskuje wystarczającą wiedzę o celu, sposobie przeprowadzenia badań i wynikach uzyskanych przez Doktorantkę. Podobną wartość ma streszczenie w języku angielskim, które może zainteresować pracą także czytelników niepolskojęzycznych.

Bardzo interesującą i ważną częścią pracy jest obszerny wstęp. Doktorantka podzieliła go na 10 podrozdziałów, w których omawia kolejno właściwości biologiczne pasożyta, jego rozprzestrzenienie i chorobotwórczość, po czym przechodzi do zagadnień związanych ze zwalczaniem inwazji. Ostatnie dwa podrozdziały poświęciła omówieniu zjawiska stresu, roli kortykosteroidów w tym procesie i sposobom oznaczania poziomu kortykosteronu.

Muszę zaznaczyć, że Wstęp pracy doktorskiej oceniam bardzo wysoko. Doktorantka w sposób przystępny wprowadza czytelnika w sferę zagadnień dotyczących inwazji roztoczy *Dermanyssus gallinae* – ptaszyńców. Dokonała tego posługując się językiem zrozumiałym także dla niefachowców, nie szermując nadmiernie terminami specjalistycznymi. Chcę zaznaczyć, że jest to rzadka umiejętność, świadcząca o dużej swobodzie z jaką Pani mgr Sylwia Koziatek-Sadłowska porusza się w zagadnieniach parazytologii. Takie przygotowanie Wstępu daje podstawy osobom, które wcześniej nie miały związku z parazytologią, czy akaroentomologią weterynaryjną do swobodnego śledzenia toku pracy. Trzeba jednak podkreślić, że Doktorantka umiejętnie rozwija we Wstępie wątki istotne dla kluczowych części pracy, które stanowią wprowadzenie cenne również dla specjalistów. Szczególnie interesująca jest krytyczna analiza stosowanych metod zwalczania ptaszyńców. Daje ona wiedzę na temat różnych metod i systemów zwalczania tych pasożytów, przedstawia jednocześnie trudności z jakimi borykają się fachowcy od zwalczania roztoczy na całym świecie.

Również rozdziały dotyczące zjawiska stresu są przedstawione w sposób bardzo przystępny, choć w tym przypadku według mnie nieco zbyt skrótowy. Przydatne byłoby również nawiązanie do przedstawionej w podrozdziale Chorobotwórczość roli ptaszyńców jako czynnika wywołującego stres. Wyprowadziło by to w sposób bezpośredni cel badań z przedstawionego wstępu.

Cel badań jest klarowny w swojej pierwszej części: „Celem badań była ocena wpływu naturalnej inwazji/populacji *D. gallinae* występującej u kur niosek zasiedlających kurniki przemysłowe na poziom kortykosteronu z uwzględnieniem cyklu produkcyjnego i wybranych metod jej zwalczania. Jak wspomniałem już wcześniej druga część celu „różnorodność genetyczna" jest niespójna z pierwszą częścią i wymagałaby sformułowania osobnego celu.

Odrębność ta widoczna jest również w sformułowaniu zakresu poszczególnych doświadczeń i dalej np. w części Materiał i metody (całkowicie odrębny materiał badawczy, różne narzędzia badawcze). Chcę tu podkreślić jeszcze raz, że obie części uważam za ważne i przy założeniu ich odrębności mogą składać się na dwuwątkową pracę doktorską. Zabrakło mi jednak uzasadnienia takiej koncepcji np. we Wstępie czy Celu badań.

Rozdział Materiał i metody opisany został w kolejności wynikającej z układu doświadczeń. Doktorantka opisała wystarczająco dokładnie fermę, w której przeprowadzono doświadczenia i kurniki wybrane do eksperymentu I i II. Następnie podała metody prowadzenia zabiegów zwalczania ptaszyńców w kurnikach (doświadczenie II) i terminarz pobierania próbek do badań, po czym przechodzi do omówienia metod oceny intensywności inwazji i oceny poziomu kortykosteronu w odchodach kur. Muszę tutaj zaznaczyć, że przy opisie tej części Materiałów i metod odczuwam pewien niedosyt. Brakuje mi przede wszystkim określenia czasu w którym wykonywano poszczególne etapy doświadczenia. Jako skalę czasową Doktorantka wykorzystuje wiek ptaków w tygodniach, co jest bardzo ważną i potrzebną informacją, pomija natomiast datę kalendarzową, co w przypadku pasożytów zewnętrznych (wykazujących znaczną zależność pomiędzy rozwojem populacji a porą roku/warunkami klimatycznymi) byłoby nie mniej ważne. Dane takie pozwoliłyby w sposób bardziej precyzyjny określić przyczyny wahań liczebności populacji roztoczy w kurnikach i odnieść się też do przyczyn wahania poziomu kortykosteronu w odchodach ptaków. Brak jest też np. informacji na temat preparatów użytych do zwalczania inwazji *D. gallinae*. Praca doktorska, jako swoista monografia, powinna dać podstawowe informacje o tego typu rzeczach bez konieczności sięgania po źródła zewnętrzne (trudnodostępne jeśli chodzi o preparat Aquamax Acari).

Rzeczą, która może nieco utrudniać dalsze zrozumienie metodologii pracy jest sposób w jaki Autorka opisała w rozdziale Materiał i metody metodę obliczania całkowitej liczby poszczególnych form rozwojowych ptaszyńców w całkowitej masie osadu. Rozumiem, że intencją obliczeń było pomnożenie masy całkowitej osadu (wyrażonej w gramach! – to koniecznie trzeba zaznaczyć w legendzie) przez liczbę osobników *D. gallinae* w danej fazie rozwoju w 1 g osadu (l_{fr} x 10) (l_{fr} to średnia liczba pasożytów w 100 mg osadu). Nie negując poprawności matematycznej wzoru, uważam, że przestawienie znaków nawiasu lub ich likwidacja ułatwi interpretację.

W części III Autorka podjęła się oceny zróżnicowania genetycznego pozyskanych izolatów *Dermanyssus gallinae*. Do tego celu słusznie wybrała fragment genu dla podjednostki I oksydazy cytochromu c (COI), a zatem fragment mitochondrialnego DNA charakteryzujący

się dużym tempem mutacji, szczególnie w porównaniu do genomowego DNA o bardziej konserwatywnym charakterze. Jest to fakt istotny, szczególnie za względu na niską zmienność genetyczną dotychczas stwierdzaną w obrębie gatunku *D. gallinae*.

Należy dodać, że poszczególne etapy (ekstrakcja DNA, reakcja PC) zostały prawidłowo zaplanowane. Sekwencjonowanie otrzymanych produktów zlecone zostało firmie zewnętrznej.

Przechodząc do omówienia wyników uzyskanych przez Doktorantkę, muszę na wstępie zaznaczyć, że są one, szczególnie wyniki doświadczenia I i II, trudne do interpretacji. W doświadczeniu I Autorka porównuje intensywność inwazji i poziom kortykosteronu w odchodach kur w 2 kurnikach. W jednym (grupa K2) w środkowej fazie doświadczenia (32-66 tydzień) poziom inwazji mierzony masą osadu z pułapek był mniejszy niż w grupie K1, a stosunek masy osadu izolowanego z pułapek w grupie K1 i K2 w 44 tygodniu wyniósł blisko 50:1. Ten fakt był prawdopodobnie przyczyną nazwania przez mgr Sylwię Koziatek-Sadłowską grupę K2 grupą kontrolną. Jako, że Autorka nie oddziaływała w żaden sposób na grupę K1, a poziom inwazji w grupie K2 nie był zerowy, można tu mówić jedynie o grupach o wysokim i niskim poziomie/intensywności inwazji. Poza użyciem nieprawidłowej nazwy, Doktorantka nie odnosi się jednak w analizach do grupy K2 jako grupy kontrolnej.

Pewne zamieszanie w analizie poziomu inwazji wnoszą tabele 1 i 2. Autorka prowadzi analizy w oparciu o przedstawione w tabelach średnie liczby osobników poszczególnych stadiów rozwojowych, dla ułatwienia przedstawia jednak również czytelnikowi sumy osobników w różnych stadiach rozwojowych (Dorosłe+ Nimfy, Dorosłe+Nimfy+Larwy, Dorosłe+Nimfy+Larwy+Jaja). W obliczeniach tych występuje sporo błędów (wynikających zapewne z formuł użytych do obliczeń w arkuszu kalkulacyjnym), uniemożliwiających przeprowadzenie analizy tą drogą. Przy publikacji wyników w czasopiśmie naukowym proponuję zrezygnować z tych sum lub dokładnie sprawdzić poprawność przedstawianych danych.

Z analizy danych przedstawionych w tabelach wynika, że w grupie K1 szczyt nasilenia inwazji wystąpił między 44 a 58 tygodniem życia ptaków, osiągając w 52 tygodniu 235200 izolowanych osobników wszystkich stadiów. W grupie K2 brak było wyraźnego trendu w dynamice inwazji ptaszyńców, chociaż w 52 tygodniu Autorka zaobserwowała wzrost liczebności form dojrzałych i nimf, a w 72 tygodniu bardzo wyraźny wzrost liczebności nimf. Statystycznie wykazano istotność różnic w liczebności poszczególnych form rozwojowych w poszczególnych terminach badania jedynie w kilku terminach – np. w grupie K1 pomiędzy liczbą dorosłych roztoczy izolowanych z pułapek w 52 tygodniu życia ptaków i izolowanych pomiędzy 70 a 80 tygodniem. Zastanawiające jest, że pomimo występowania dużych różnic

pomiędzy liczebnością izolowanych roztoczy także w innych terminach (np. liczba izolowanych osobników dorosłych w 28 tygodniu wyniosła 2035, a w 52 tygodniu 91200) nie wykazano istotności statystycznej tych różnic.

Dane zawarte w tabelach 1 i 2 częściowo powtórzone są w rycinach 1 i 2, w których przedstawiono procentowy udział poszczególnych form rozwojowych ptaszyńców w ich populacji w kolejnych terminach badania w grupach K1 i K2. Mimo powtórzenia uważam, że ten sposób prezentacji jest właściwy i ułatwia prześledzenie zmian zachodzących w składzie populacji roztoczy w czasie doświadczenia. Pokazuje jednak jednocześnie, że w uzyskanych wynikach pojawiają się wartości znacznie odbiegające od zaznaczającego się trendu, co może wskazywać na ich przypadkowość.

Oznaczenia poziomu kortykosteronu Doktorantka słusznie poprzedziła skróconą walidacją użytego w tym celu testu ELISA, ustalając m.in. konieczność rozcieńczenia próbki do badań oraz określając zmienność/powtarzalność testu. Po tych czynnościach wstępnych mgr Sylwia Koziatek-Sadłowska przystąpiła do określania poziomu kortykosteronu w grupie K1 i K2. Porównała wyniki uzyskane w obu grupach w kolejnych tygodniach doświadczenia. Odniosła je również do stwierdzonego poziomu inwazji.

Stwierdzany przez doktorantkę średni poziom kortykosteronu w próbkach kału od kur niosek z grupy K1 wahał się od 37,2 pg/ml w 28 tygodniu życia ptaków do 201,9 pg/ml w 52 tygodniu. W grupie K2 odpowiednio od 28,8 pg/ml w 70 tygodniu do 194, 4 pg/ml w 58 tygodniu.

W celu porównania dynamiki inwazji *D. gallinae* i poziomu kortykosteronu Autorka przedstawiła te wartości na wykresach (osobno dla grup K1 i K2). Następnie w tabeli (tabela 6) przedstawiła obliczone współczynniki korelacji pomiędzy wartością poziomu kortykosteronu i liczebnością poszczególnych form rozwojowych. Doktorantka uzyskała w grupie K1 współczynniki r wahające się pomiędzy 0,1072 (relacja kortykosteron/liczebność larw) do 0,659 (relacja kortykosteron/masa osadu) i 0,6952 (relacja kortykosteron/liczebność jaj). W ostatnich dwóch przypadkach zależności te były istotne statystyczne ($p=<0,05$) co wskazuje na istnienie średniej korelacji pomiędzy tymi parametrami. W grupie K2 współczynniki te wahały się pomiędzy -0,236 a 0,1150 wskazując na brak korelacji. Muszę tu zamieścić parę uwag dotyczących tabeli 6. Po pierwsze - współczynnik p określa w tym przypadku istotność statystyczną współczynnika korelacji, a nie jak Doktorantka pisze w legendzie do tabeli istotność statystyczną różnic (różnice pomiędzy czym, a czym?). Po drugie tabela dotyczy części pracy określającej poziomy kortykosteronu, dlatego wyniki obliczeń korelacji pomiędzy masą całkowitą osadu, a liczebnością poszczególnych postaci rozwojowych

ptaszyńców nie powinny się w niej znaleźć (takie obliczenia można ewentualnie umieścić w części 1 *Intensywność inwazji i struktura populacji D. gallinae*). Należy też dokładnie sprawdzić obliczenia w części tabeli dotyczącej korelacji pomiędzy poziomem kortykosteronu a sumami liczebności poszczególnych stadiów rozwojowych ze względu na wcześniej pojawiające się błędy w obliczeniach tych sum).

W Doświadczeniu II Doktorantka podjęła się oceny wpływu zabiegów zwalczania inwazji *D. gallinae* preparatami Aquamax Acari i Dergall na intensywność inwazji ptaszyńców (skuteczność zwalczania?) i poziom kortykosteronu w odchodach kur niosek. Autorka zaobserwowała ciekawą sytuację. W grupie K3, której podano preparat Aquamax Acari w wodzie do picia nastąpił w ciągu 4 tygodni tj. pomiędzy 40 (zastosowanie preparatu) a 44 tygodniem życia ptaków stopniowy spadek liczebności form rozwojowych ptaszyńców (gł. dorosłych i nimf). W grupie K4, w której zastosowano preparat Dergall o działaniu fizycznym liczba stwierdzanych osobników dorosłych i jaj sukcesywnie rosła w tych 4 tygodniach, (poza przejściowym spadkiem liczby jaj w 42 tygodniu) natomiast liczba nimf i larw ulegała nieregularnym wahaniom. W grupie kontrolnej K5 podobnie jak w grupie K3 obserwowano trend spadkowy liczby osobników w poszczególnych fazach rozwoju.

Jeśli chodzi o poziom kortykosteronu, to w grupie K3 można było zaobserwować trend wzrostu tego parametru, natomiast w grupach K4 i K5 wahania poziomu. Korelacje pomiędzy poziomem kortykosteronu i liczebnością pasożytów mimo wysokiego współczynnika r-Pearsona (w grupie K3 -0,847 dla KORT/D, -0,791dla KORT/N) nie były jednak istotne statystyczne. Tu również podobna do poprzedniej uwaga dotycząca tabeli ilustrującej korelacje – p-value określa istotność statystyczną współczynnika r tj. daje informacja czy dana zależność jest istotna statystycznie, nie mówi natomiast nic o istotności statystycznej różnic.

W doświadczeniu III Doktorantka przeprowadziła badania nad zróżnicowaniem populacji *D. gallinae* w obrębie genu dla podjednostki I oksydazy cytochromu c (COI). Wszystkie izolaty pozyskane przez Autorkę z 5 ferm drobiu przyporządkowała ona do haplogrupy A i potwierdziła niską zmienność genetyczną krajowych szczepów pasożyta.

Ciekawą częścią pracy doktorskiej mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej jest Dyskusja. Doktorantka słusznie podkreśla, że przeprowadzone badania są pionierskimi jeśli chodzi o wpływ inwazji *D. gallinae* na kształtowanie się poziomu kortykosteronu u kur niosek w hodowli przemysłowej w trakcie pełnego cyklu produkcyjnego. Autorka przeanalizowała przyczyny wczesnego pojawiania się pasożytów w hodowlach, a następnie przechodzi do omówienia/dyskusji własnych wyników dotyczących dynamiki inwazji w grupach K1 i K2 oraz kształtowania się na tym tle poziomu kortykosteronu w odchodach ptaków. W tej części

posiłkuje się wykresami ilustrującymi wyniki przedstawione w poprzedniej części pracy (w odmiennej jednak formie). Zamieszczenie wykresów prezentujących uzyskane wyniki w części pracy zatytułowanej „Dyskusja" może być uznane za kontrowersyjne, ja jednak uważam, że ten sposób znacznie ułatwia odbiór pracy. Przy publikacji w czasopiśmie naukowym, ze względu na wymagania edytora, trzeba będzie z niego zrezygnować. Muszę tu ponownie zwrócić uwagę na konieczność weryfikacji danych przedstawionych na wykresach wynikających z obliczeń sumy różnych form rozwojowych ptaszyńców w poszczególnych terminach. Pewne zastrzeżenia budzi również sposób wykonania wykresów: na rycinie 13 pojawia się na osi czasu „dodatkowy" – pierwszy tydzień życia ptaków – nie ujęty w metodyce. W obu wykresach tj 13 i 14 oś czasu nie pokrywa się z punktami węzłowymi przedstawionych krzywych. Jest to zapewne skutek błędu w programie użytym do tworzenia wykresów, należy to jednak zweryfikować. Uwzględnienie powyższych uwag przy publikacji danych w czasopiśmie naukowym znacznie ułatwi interpretację wyników. Okazuje się bowiem, że w grupie K1 szczyt nasilenia występowania wszystkich postaci rozwojowych (tj. DN, DNL i DNJ) oraz szczyt poziomu kortykosteronu w odchodach kur wystąpiły w tym samym czasie tj. w 52 tygodniu życia ptaków. Potwierdza to założenia Doktorantki, podobnie zresztą jak porównanie poziomu kortykosteronu i masy całkowitej osadu. Zgadzam się też z tezą mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej odnośnie tego, że w grupie K2 poziom inwazji mógł być zbyt niski, aby wywołać taki efekt. Niemniej poziomy kortykosteronu przewyższające niekiedy w tej grupie poziom w grupie K1 mogą sugerować istnienie innych czynników wpływających na podwyższenie poziomu tego hormonu.

Omawiając Doświadczenie II Doktorantka prawidłowo interpretuje wyniki świadczące o skuteczności prowadzonych zabiegów zwalczania ptaszyńców. Ewidentna, bezdyskusyjna jest wysoka skuteczność po zastosowaniu w grupie K3 preparatu Aquamax Acari. W przypadku preparatu Dergall zaobserwowano jednak efekt odwrotny. Po wykonaniu zabiegu dezynsekcji/dezakaryzacji liczba ptaszyńców izolowanych z pułapek znacząco wzrosła. Doktorantka trafnie tłumaczy to częściową immobilizacją pasożytów i pozostawaniem ich w schronieniach (w tym w zastosowanych pułapkach). W grupie kontrolnej (K5) obserwowano wówczas wahania poziomu inwazji. Autorka przeprowadziła również analizę poziomu kortykosteronu w odchodach kur z grup K3, K4 i K5. Umiejętnie wytłumaczyła brak korelacji pomiędzy poziomem tego hormonu, a intensywnością inwazji.

Dyskusję dotyczącą Doświadczenia I i II Doktorantka przeprowadziła porównując wyniki swoich badań z wynikami przedstawionymi przez innych autorów w dość ograniczonej liczbie publikacji. Jest to jednak całkowicie zrozumiałe, gdyż jak wspomniano badania mgr

Sylwii Koziatek-Sadłowskiej w tym zakresie są badaniami pionierskimi, a liczba artykułów naukowych poruszających te tematy znikoma.

Znacznie bardziej rozbudowana jest dyskusja w części dotyczącej Doświadczenia III. Doktorantka umiejętnie zestawiła wyniki swoich badań z wynikami uzyskiwanymi na świecie. Scharakteryzowała rozprzestrzenienie poszczególnych haplotypów *D. gallinae* na świecie. Umiejscowiła własne izolaty w haplogrupie A, stwierdzając jednocześnie, że najczęściej występującym był haplotyp 46. Zauważyła też, że wg. innych autorów, w Polsce spotykane są również haplotypy należące do haplogrupy B wykazujące pokrewieństwo ze szczepami pasożytów występujących w krajach Europy Zachodniej.

Pracę Doktorantka kończy pięcioma wnioskami. Wnioski uważam za słuszne, jednak w swoim brzmieniu wniosek nr 1 i 5 wydają się mi nieco zbyt ogólne. Wniosek 3 natomiast proponuję przeredagować na np. „Poziom kortykosteronu u kur niosek w cyklu produkcyjnym jest związany z poziomem inwazji *D. gallinae*". Druga część wniosku nieco zbyt daleko idąca. Jak wspomniałem we wstępie niniejszej recenzji uzyskane wyniki oraz wyciągane wnioski mogą wydawać się w pewnych punktach dyskusyjne. Należy przy ocenie wziąć jednak pod uwagę uwarunkowania, w jakich prowadzono eksperymenty, a więc warunki typowo terenowe, gdzie badacz może właściwie tylko rejestrować badane parametry nie mając decydującego wpływu na przebieg samego doświadczenia i warunki temu towarzyszące. Analiza danych uzyskanych w takich warunkach jest ekstremalnie trudna. Oceniając pracę uważam, że Doktorantka poradziła sobie z tymi wyzwaniami. Odrzucając w ostatecznej analizie małoznaczące różnice potrafiła dostrzec prawidłowości w ocenianych wynikach i wyciągać z tego wnioski. Dodatkowo Doktorantka w części typowo laboratoryjnej pracy (Doświadczenie III) udowodniła, że swobodnie posługuje się laboratoryjnymi narzędziami badawczymi, które rozumiem nie tylko jako znajomość technik badawczych, ale również jako zdolność do panowania nad przebiegiem eksperymentu.

Reasumując pracę doktorską mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej pt. „Wpływ populacji *Dermanyssus gallinae* na poziom kortykosteronu u kur niosek oraz jej różnorodność genetyczna" mimo pewnych niedociągnięć oceniam bardzo pozytywnie. Poszerza ona w sposób istotny wiedzę na temat przebiegu inwazji *D. gallinae* w hodowlach przemysłowych kur niosek. To jednak co najważniejsze, świadczy o tym, że Pani mgr Sylwia Koziatek-Sadłowska stała się dojrzałym pracownikiem naukowym. Potrafi samodzielnie znaleźć problem badawczy, ująć go w postaci celu, zaplanować sposób rozwiązania tego problemu, wykonać odpowiednie do tego eksperymenty i wysnuć wnioski z uzyskanych wyników. I co równie ważne potrafi wszystkie te czynności opisać w postaci opracowania naukowego.

Konkludując stwierdzam, że praca doktorska mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej pt. „Wpływ populacji *Dermanyssus gallinae* na poziom kortykosteronu u kur niosek oraz jej różnorodność genetyczna" odpowiada warunkom określonym w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789), w związku z art. 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 30 sierpnia 2018 r., poz 1669 ze zm.) i wnoszę o dopuszczenie mgr Sylwii Koziatek-Sadłowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. Tomasz Cencek

Cencek