



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Prof. dr hab. Barbara Bilińska (*emeritus*)
Uniwersytet Jagielloński

Ocena rozprawy doktorskiej
lek. wet. Martyny Frątczak
pt. Zróżnicowanie i znaczenie wskaźnika palcowego (digit ratio)
u wybranych przedstawicieli rzędu płazów bezogonowych (Anura)

Podstawowe informacje o Kandydatce:

Pani Martyna Frątczak rozpoczęła studia weterynaryjne na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu w październiku 2015 roku, a zakończyła w lutym 2021 r., uzyskując tytuł lekarza weterynarii w dniu 1 marca 2021 r. w macierzystym Uniwersytecie. Nie ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora. Od października 2021 roku do kwietnia 2026 r. kontynuowała kształcenie na Studiach doktoranckich w dziedzinie nauk biologicznych.

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

W latach 2024-2026 (02.04.24 - 28.02.26) była zatrudniona w ramach umowy zlecenie na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, jako kierownik projektu badawczego PRELUDIUM 22, pt. *Wpływ zanieczyszczeń o czynności endokrynnej na płęć i wskaźnik palcowy (digit ratio) u żab zielonych i brunatnych*, finansowanego przez NCN (2024-2027).

Zakład Endokrynologii

Od 1 marca 2026 roku kontynuuje zatrudnienie w Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu na podstawie umowy o pracę w wymiarze pół etatu, pracując do chwili obecnej na stanowisku asystenta w grupie pracowników badawczo-dydaktycznych.

Informacje o ocenianej rozprawie doktorskiej:

Rozprawa doktorska Pani Martyny Frątczak pt. *Zróżnicowanie i znaczenie wskaźnika palcowego (digit ratio) u wybranych przedstawicieli rzędu płazów bezogonowych (Anura)* została przygotowana w oparciu o cztery pierwszo-autorskie publikacje: dwa artykuły przeglądowe i dwie prace badawcze wykonane u wybranych przedstawicieli Anura: (1) zrealizowana na materiale archiwalnym – okazach, ze zbiorów Katedry Zoologii, (2) – to oryginalna praca eksperymentalna z zastosowaniem dwóch syntetycznych związków hormonalnie czynnych: bisfenolu A i 17 α -etynyloestradiolu.

Wszystkie prace zostały opublikowane w specjalistycznych periodykach z bazy Web of Science, każda z nich została zrecenzowana przez co najmniej dwóch ekspertów powołanych przez redakcje czasopism, dlatego skupiłam uwagę na polskojęzycznym opracowaniu, które Doktorantka opatrzyła Wstępem, przedstawiła Hipotezy, Cele,

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel./fax: +48 12 664 5

Materiały i Metodykę oraz Wyniki, mając na uwadze nie tylko uzupełnienie anglojęzycznych artykułów ale również zwięźcenie pracy w całość, co znajduje odzwierciedlenie w podrozdziałach: Dyskusja, Podsumowanie, Wnioski i Perspektywy dalszych badań. Na początku rozprawy znajduje się Wykaz skrótów oraz Streszczenia (w języku polskim i angielskim), a w jej końcowej części, zamieszczone zostały stosowne oświadczenia Pani Martyny Frątczak oraz współautorów, jednoznacznie wskazujące na wiodący udział Doktorantki w opracowaniu koncepcji, realizacji i przygotowaniu manuskryptów prac, stanowiących podstawę ubiegania się o stopień doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie – nauki biologiczne. Dane bibliograficzne publikacji przedstawiam poniżej:

1. Frątczak M, Kaczmarski M, Szkudelska K, Tryjanowski P (2025) Assessing species bias in amphibian research on endocrine disruptors: beyond *Xenopus laevis*. *Frontiers in Environmental Science* 13: 1556788 **(5-letni IF – 4,1; punktacja wg MNiSW – 100)**.
2. Frątczak M, Kaczmarski M, Szkudelska K, Tryjanowski P (2025) Chemical interference: a review on endocrine disruptors and reproductive communication in amphibians. *Ecology and Evolution* 15: e71986 **(5-letni IF – 2,8; punktacja wg MNiSW – 100)**.
3. Frątczak M, Kaczmarski M, Jankowiak Ł, Klessa J, Bielicki K, Lyskov B, Tryjanowski P (2025) Digit ratio in the common spadefoot toad *Pelobates fuscus* (Anura: Mesobatrachia: Pelobatidae): patterns and correlations. *The European Zoological Journal* 92: 203-209 **(5-letni IF – 1,6; punktacja wg MNiSW – 140)**.
4. Frątczak M, Szkudelska K, Grobelna M, Hermaniuk A, Jankowiak Ł, Kaczmarski M, Myczko Ł, Rozenblut-Kościś B, Tryjanowski P (2026) Impact of bisphenol A and ethinyloestradiol on sex, body condition and digit ratio of the marsh frog *Pelophylax ridibundus* in the mesocosm exposure system. *Aquatic Toxicology*, 294:107788 **(5-letni IF – 4,4; punktacja wg MNiSW – 140)**.

Warto zaznaczyć, że od ponad 20 lat, poznanie skutków działania związków zaburzających funkcjonowanie układu hormonalnego, tzw. endocrine-disrupting compounds (EDCs), stanowiło cel licznych badań eksperymentalnych i klinicznych. Związki te – naturalne lub syntetyczne – wywołują negatywne skutki w organizmach, ingerując w biosyntezę, metabolizm i/lub działanie hormonów. Aktualny stan wiedzy pozwala na stwierdzenie, iż nadmierna ekspozycja na działanie środowiskowych substancji o działaniu estrogennym, tzw. ksenoestrogenów, prowadzi do licznych zaburzeń, m. in. nieprawidłowego rozwoju układu rozrodczego, zakłóceń steroidogenezy i spermatogenezy, czy obniżenia jakości i ilości nasienia

u samców ssaków. U płazów natomiast dane literaturowe są nieliczne, co świadczy o istocie problematyki, w którą Doktorantka została włączona. Dlatego niezwykle rzetelną analizę przeglądu literatury na temat wpływu EDCs na płazy, a następnie udoskonalenie metodyki analizy wskaźnika palcowego (*digit ratio*) u płazów bezogonowych z wykorzystaniem zakonserwowanych okazów grzebiuszki ziemnej *Pelobates fuscus*, oraz przeprowadzenie oceny oddziaływania dwóch estrogenie działających związków na rozwój płciowy, budowę gonad, wskaźnik palcowy i kondycję somatyczną żaby śmieszki *Pelophylax ridibundus* oceniam bardzo wysoko. Bez takiego podejścia Doktorantki nie byłoby rozwiązania postawionych celów. Pani Martyna Frątczak oparła swoje założenia na wynikach wcześniejszych eksperymentów, pokazujących, iż wskaźnik palcowy u płazów jest cechą podatną na manipulację hormonalną. Warto jednak dodać, że większość informacji pochodzi z badań na gatunkach modelowych z rodzaju *Xenopus*, co nie odzwierciedla w pełni zróżnicowania genetycznego, fizjologicznego i ekologicznego płazów. Tak więc wykorzystanie gatunków niemodelowych ma duże znaczenie poznawcze. Trzeba również zaznaczyć, że właśnie płazy są szczególnie narażone na rozpowszechnione w środowisku substancje endokrynnie czynne. Zastosowane przez Doktorantkę związki, to 17 α -etynyloestradiol – syntetyczny estrogen o feminizującym działaniu oraz bisfenol A – syntetyczny analog estrogenów, działający agonistycznie lub antagonistycznie, w zależności od wiązania z danym typem receptora. Co ważne, do przeprowadzenia badań eksperymentalnych wybrała stężenia, odpowiadające poziomom tych związków, obserwowanym w wodach powierzchniowych w Polsce. Należy także podkreślić, że badania realizowała w ramach projektu: „Wpływ zanieczyszczeń o czynności endokrynniej na płęć oraz wskaźnik palcowy (2D:4D) u żab zielonych i brunatnych finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu PRELUDIUM.

Ocena wartości merytorycznej rozprawy:

Doktorantka we Wstępie przedstawia dane dotyczące wskaźnika palcowego, omawia związki endokrynnie czynne skupiając uwagę na płazach. W tym kontekście przechodzi do opisu wskaźnika palcowego jako indykatora zaburzeń hormonalnych, a w końcowej części rozdziału koncentruje się na wybranych związkach, należących do EDCs, opierając się na danych, uzyskanych w wyniku dogłębnej analizy światowego piśmiennictwa. W cyklu prac składających się na rozprawę doktorską ten obszar wiedzy został zawarty w dwóch artykułach przeglądowych, opublikowanych w uznanych czasopismach: *Frontiers in Environmental Science* oraz *Ecology*

and Evolution w 2025 roku. Mając na uwadze rzetelne opracowanie prezentowanej tematyki, porządkujące stan wiedzy na temat oddziaływania EDCs na płazy, pragnę zachęcić Doktorantkę do opublikowania artykułu przeglądowego w języku polskim, który stałby się pożytecznym materiałem dla pracowników, studentów i doktorantów wydziałów przyrodniczych.

W części metodycznej, Doktorantka przedstawia własną, opracowaną w szczegółach, metodologię wyszukiwania publikacji, którą oparła na zdefiniowanym zestawie słów kluczowych wprowadzanych do dwóch baz danych: *Web of Science Core Collection* i *Google Scholar*. Dwuetapowy przegląd piśmiennictwa pozwolił na uzyskanie ponad 750 pozycji literatury przedmiotu, spełniających założone przez Autorkę kryteria. Tak profesjonalne podejście do zasługuje na wysoką ocenę.

Metodyka badań mających na celu udoskonalenie analiz wskaźnika palcowego u płazów bezogonowych, z wykorzystaniem materiału archiwalnego, zgromadzonego w macierzystej jednostce, została zawarta w trzeciej pracy, opublikowanej w *The European Zoological Journal* także w 2025 roku. Doktorantka dołożyła wszelkiej staranności aby zapewnić poprawność pomiarów. Płeć osobników określała na podstawie makroskopowej budowy gonad, standardowe pomiary morfometryczne wykonywane przez dwóch niezależnych obserwatorów, a zgodność pomiarów oceniane dzięki współczynnikowi korelacji wewnątrzklasowej. Istotne były dalsze analizy komputerowe wykonane z mikrofotografii wszystkich kończyn grzebiuszki ziemnej. Lokalizację punktów homologicznych na palcach kończyn oceniała w oparciu o metodykę opisaną wcześniej w zespole prof. Tryjanowskiego, Promotora rozprawy. Dwuetapowe analizy statystyczne posłużyły do wyznaczenia wskaźnika palcowego bez dodatkowej korekcji allometrycznej, natomiast modele liniowe, doprowadziły do weryfikacji zależności wskaźnika palcowego od płci i wielkości ciała. Kolejne analizy statystyczne pozwoliły na porównanie wartości wskaźnika palcowego między kończynami lewej i prawej strony ciała oraz określenie siły ich różnic. Doktorantka wykorzystała również indeks dymorfizmu płciowego, pokazujący kierunek i skalę różnic między płciami. Dalszą ocenę prowadziła stosując korelacje Pearsona, przy statystycznie istotnej zależności oparła się na dopasowywaniu dwóch modeli, liniowego i potęgowego, a porównanie ich dopasowania badała przy użyciu kryterium informacyjnego Akaikego.

Wyraźnie widać, że Doktorantkę cechuje ważna w pracy badawczej solidność i dociekliwość naukowa oraz nieodłączna z tymi cechami pracowitość.

Celem czwartego artykułu opublikowanego w *Aquatic Toxicology* z 2026 r. było określenie wpływu związków o działaniu estrogenym na rozwój płciowy, budowę gonad, *digit ratio* i kondycję ciała żaby śmieszki. Przygotowanie materiału badawczego przez Doktorantkę

wymagało szczególnej staranności, aby w szeroko zakrojonym eksperymencie obejmującym 300 kijanek, wydzielić 5 grup osobników: kontrolną, oraz cztery doświadczalne, w tym trzy grupy eksponowane na różne stężenia bisfenolu A i jedną grupę z ekspozycją na estrogeny związek, 17 α -etynyloestradiol, który służył jako kontrola pozytywna.

Aby uzyskać pomiary morfometryczne ciała i mikrofotografie kończyn w/w grup osobników Doktorantka postępowała analogicznie jak z materiałem archiwalnym. W kolejnym etapie dokonała makroskopowej oceny budowy gonad, przeprowadziła analizę histologiczną i sporządziła obszerną dokumentację fotograficzną, która pozwoliła na ocenę płci fenotypowej, stadium rozwoju gonad i obserwację zaburzeń po ekspozycji na badane związki. Wykonała wysoce złożone analizy statystyczne, w wyniku których uzyskała dane o długości palców, a następnie o wskaźniku palcowym, oraz o kondycji osobników niezależnie od ich wielkości. Należy zaznaczyć, że cechy te analizowała u samic i samców, aby uwzględnić dymorfizm płciowy.

Zastosowane przez Doktorantkę modele statystyczne w badaniach zbiorów archiwalnych *P. fuscus* uwidocznily kluczowe znaczenie korekty allometrycznej dla prawidłowej interpretacji wskaźnika palcowego u płazów. Uwzględnienie allometrii w analizie tej cechy ujawniło różnice płciowe niewidoczne bez jej wprowadzenia. U grzebiuszki ziemnej Doktorantka potwierdziła postawioną hipotezę – wzór wskaźnika palcowego jest dymorficzną cechą płciową, natomiast u żaby śmieszki, hipotezę tę odrzuciła. Wśród osiągnięć rozprawy na uwagę zasługują wyniki badań eksperymentalnych, wskazujące na silne działanie feminizujące etynyloestradiolu. Konsekwencje takiego efektu mogą mieć istotne znaczenie na poziomie populacyjnym, zwłaszcza w przypadku kompleksów gatunków funkcjonujących w systemie hybrydowym. W takim przypadku, zaburzenie stosunku płci, w szczególności niedobór samców jednego z krzyżujących się gatunków, może prowadzić do zaburzenia relacji pomiędzy formami rodzicielskimi i hybrydami, a więc do destabilizacji systemu hybrydowego. Inaczej jest w przypadku bisfenolu A, którego wpływ na różnicowanie płci i rozwój gonad pozostaje niejednoznaczny. Warto podkreślić, że uzyskane efekty działania obu związków w najwyższych stężeniach, pozwoliły Doktorantce wnioskować o ich negatywnym wpływie na kondycję somatyczną osobników. Pokazując zależny od wielkości ciała i pomiędzy kończynami wpływ badanych związków, Doktorantka udokumentowała, iż wskaźnik palcowy nie jest uniwersalnym markerem płci u płazów, może mieć jednak potencjalną wartość jako wskaźnik zaburzeń endokrynnych. To wartościowy wynik niniejszej rozprawy. Co istotne, Autorka wskazuje

kierunek dalszych badań, wykorzystujących potencjalną przydatność analiz *digit ratio* w biomonitoringu środowiska.

Reasumując, przedstawiona do recenzji dysertacja, obejmująca cykl czterech publikacji wraz z polskojęzycznym opracowaniem, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, będąc cennym wkładem do poznania wpływu EDCs na płazy, ze szczególnym uwzględnieniem oddziaływania dwóch związków hormonalnie czynnych: bisfenolu A i 17 α -etynyloestradiolu, na płęć, budowę gonad, kondycję osobników i wskaźnik palcowy u przedstawiciela Anura.

Doktorantka wykazała się dużą wiedzą, zrozumieniem problemu i biegłością w poprawnym stosowaniu analiz statystycznych. Zgłębiła literaturę przedmiotu, co zaowocowało prawidłowym wspieraniem wnioskowania światowym piśmiennictwem. Jestem przekonana, że w ten sposób przystąpiła dobrze przygotowana do pracy laboratoryjnej i późniejszej interpretacji uzyskanych wyników. Ujęcie problemu w cyklu opublikowanych prac, pokazuje logiczne dążenie do rozwiązania postawionych celów, do czego zapewne przygotowali Doktorantkę, Promotor, Profesor Piotr Tryjanowski, badacz o ugruntowanej pozycji w środowisku naukowym oraz Promotor pomocniczy, dr inż. Mikołaj Kaczmarski.

Ponieważ jednym z elementów oceny jest wychwycenie braków, błędów czy nieścisłości w ocenianej dysertacji, poniżej przedstawiam drobne usterki stylistyczne i uwagi dotyczące polskojęzycznego opracowania z prośbą o wyjaśnienie, które zestawiałam w punktach.

1. Sformułowanie – „Zaburzenia na tym etapie”... proponuję zastąpić „Zaburzenia w tej fazie rozwoju” (str. 13).

2. Zdanie„Zarodki rozwijają się w jajach pozbawionych ochronnych skorupiek...” jest nieprecyzyjne. Warto zastąpić właściwym określeniem... „Zarodki rozwijają się w jajach pozbawionych sztywnych, nieprzepuszczalnych osłon jajowych” (str. 13).

3. Niezręcznym wydaje się fragment zdania – ”...przegląd literatury mający na celu uwidocznienie dysproporcji gatunkowych”. Drugą część zdania sugeruję zmienić na „uwidocznienie różnic międzygatunkowych” (str. 14).

4. W części metodycznej dostrzegłam nieprecyzyjny opis metod histologicznych. Warto byłoby wymienić związki w trójskładnikowym barwieniu Mallory'ego (ta klasyczna, histochemiczna technika nie jest dziś powszechnie znana) lub zacytować prace źródłową. Brak także informacji o odwadnianiu i przepajaniu materiału w procedurze histologicznej. Szczegółów tych nie znalazłam również w anglojęzycznej publikacji (str. 24).

5. W dyskusji, pisząc o gatunku z grupy o pośredniej pozycji filogenetycznej (str. 34), czy rozważała Pani możliwość przedstawienia kladogramu? Może byłby cennym uzupełnieniem dyskusji wyników własnych.

6. W akapicie dotyczącym efektu działania bisfenolu i etynyloestradiolu (str. 38) widnieje określenie .."odpowiedź długości palców"... Termin „zróżnicowanie długości palców” wydaje się być odpowiednim.

I dalej (str. 38) ...”związki estrogenowe mogą wpływać na długość palców poprzez ogólne zaburzenie równowagi hormonalnej lub działanie alternatywnych szlaków regulacyjnych”. Czy mogę prosić o komentarz wyjaśniający jak Pani rozumie „zaburzenie równowagi hormonalnej” czy uruchomienie innych szlaków regulacyjnych?

Podsumowując pragnę zaznaczyć, że całość pracy zredagowana jest bardzo starannie, co przemawia za dużym zaangażowaniem Doktorantki w edytorską poprawność rozprawy i pomimo drobnych nieścisłości, które wykazałam powyżej, rozprawę doktorską Pani Martyny Frątczak oceniam bardzo pozytywnie. Weryfikację założeń badawczych Doktorantka osiągnęła na drodze logicznie zaplanowanych badań, co wskazuje na umiejętność wykorzystania wiedzy teoretycznej i praktycznej. Wnioski wyciągnięte z przeprowadzonych badań są uzasadnione i inspirują do dalszych poszukiwań naukowych.

Wniosek końcowy

W świetle powyższego stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani lek. wet. Martyny Frątczak pt.: *Zróżnicowanie i znaczenie wskaźnika palcowego (digit ratio) u wybranych przedstawicieli rzędu płazów bezogonowych (Anura)* spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm). Wnoszę zatem do Rady Naukowej Dyscypliny

Nauki biologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Pani lek. wet. Martyny Frątczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na walory poznawcze badań (z możliwością ich zastosowania w przyszłości), których wyniki zostały opublikowane w czasopismach indeksowanych w bazie Web of Science, wnioskuję o jej wyróżnienie w formie przewidzianej regulaminem macierzystej Uczelni. W uzasadnieniu decyzji pragnę podkreślić uzyskanie nowych, wartościowych danych, m.in. udoskonalenie metodyki analiz wskaźnika palcowego u grzebiuszki ziemnej oraz opisanie wpływu zależnego od stężenia i rodzaju estrogenie działającej substancji, na rozwój płciowy osobników żaby śmieszki, manifestujące się znaczącym przesunięciem proporcji płci w kierunku samic po ekspozycji na 17 α -etynyloestradiol, oraz brakiem efektu feminizującego po bisfenolu A. Dlatego, znaczącą wartością przedłożonej rozprawy jest uwidocznienie złożoności oddziaływania związków hormonalnie czynnych na rozwój płazów. Wykazanie, iż wskaźnik palcowy może być wczesnym, nieinwazyjnym indykatorem zmian hormonalnych u żaby śmieszki zostało również wysoko ocenione. Istotne znaczenie ma także wskazanie przez Autorkę kierunku prowadzenia dalszych badań i wykorzystanie tej morfometrycznej cechy w biomonitoringu środowiska.



Prof. dr hab. Barbara Bilińska
członek rzecz. PAN

Kraków, 20 sierpnia 2026 r.