

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

**Recenzja rozprawy doktorskiej
lek. wet. Martyny FRĄTCZAK**

**pt. „Zróżnicowanie i znaczenie wskaźnika palcowego (*digit ratio*) u wybranych
przedstawicieli rzędu płazów bezogonowych (Anura)”**

wykonanej pod kierunkiem

**prof. dra hab. Piotra TRYJANOWSKIEGO
(promotor)**

**dra inż. Mikołaja KACZMARSKIEGO
(promotor pomocniczy)**

**na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu**

PODSTAWY FORMALNE WYDANIA OPINII/RECENZJI:

- *art. 190, ust. 2-5 oraz art. 187, ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2022 r., poz. 574 z późn. zm.).*
- *Uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Nauki biologiczne Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu (pismo WWZ-4000-5/2026 z 3 lipca 2026 r.).*
- *Rozprawa doktorska w postaci czterech artykułów naukowych opatrzonych stosownym wstępem i komentarzem (wersja papierowa w twardej oprawie, wydruk jednostronny).*

CHARAKTERYSTYKA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Układ rozprawy, w tym informacja o jej poszczególnych częściach składowych

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani lek. wet. Martyny Frątczak stanowi uporządkowane opracowanie, charakteryzujące się dobrze zaprojektowaną strukturą oraz przejrzystą narracją. Praca została podzielona na 12 rozdziałów głównych wraz z podrozdziałami, co ułatwia odbiór prezentowanych treści i pozwala na systematyczne śledzenie toku rozumowania Autorki.

Zasadniczą część rozprawy poprzedzają oświadczenia promotorów oraz Autorki. Część merytoryczną otwierają wykaz stosowanych skrótów (str. 8) oraz streszczenia w języku polskim (str. 9) i angielskim (str. 10). Następnie przedstawiono: wstęp (str. 11–17), hipotezy badawcze (str. 18), cele i zakres rozprawy (str. 19), materiały i metody (str. 20–27), najważniejsze wyniki badań (str. 28–31), dyskusję (str. 32–39), podsumowanie i wnioski (str. 40–41), perspektywy dalszych badań (str. 42), spis literatury (str. 43–53) oraz spis rycin (str. 54). Integralną część rozprawy stanowią również artykuły naukowe wchodzące w skład cyklu publikacyjnego (str. 55–120) oraz oświadczenia współautorów dotyczące ich udziału w powstaniu poszczególnych publikacji (str. 121–145).

Poprawność redakcyjna rozprawy

Struktura dysertacji została zaprojektowana w sposób przemyślany i logiczny, co zapewnia czytelność opracowania oraz ułatwia zrozumienie prezentowanych treści. Autorka posługuje się językiem prostym, precyzyjnym i komunikatywnym, dzięki czemu poruszane zagadnienia są przedstawione w sposób przejrzysty i łatwy do śledzenia. Na podkreślenie zasługuje również fakt, że rozprawa jest wolna od zbędnych ozdobników stylistycznych i nadmiernie rozbudowanych fragmentów opisowych. Taki sposób prezentacji treści sprzyja zachowaniu zwięzłości wywodu, a jednocześnie nie ogranicza wartości merytorycznej pracy, czyniąc ją spójną, klarowną i przyjazną w odbiorze.

Zaprezentowane w rozprawie ryciny dobrze spełniają swoją funkcję informacyjną i uzupełniającą. Zostały przygotowane w sposób przejrzysty i adekwatny do prezentowanych treści, dzięki czemu ułatwiają odbiór oraz interpretację uzyskanych wyników. Materiał ilustracyjny nie pełni jedynie roli dekoracyjnej, lecz stanowi wsparcie dla prowadzonych analiz i przedstawianych wniosków, przyczyniając się do lepszego zrozumienia omawianych zagadnień oraz zwiększając wartość poznawczą opracowania.

Rekomenduję podawanie cytacji w kolejności chronologicznej, zgodnie z rokiem ich opublikowania, a nie – jak obecnie – alfabetycznie (np. porównaj str. 11). Takie podejście ułatwia orientację w przyroście informacji w odniesieniu do poruszanych w tekście zagadnień, pokazując ich rozwój w czasie i ewolucję badań.

Drobnym uchybieniem o charakterze edytorskim jest niekonsekwentne podawanie nazw rodzajowych organizmów. W części opracowania (na stronach 34–35) nazwy rodzajów zostały zapisane w formie skróconej. Uchybienie to ma jednak charakter wyłącznie techniczny i nie wpływa na wartość merytoryczną pracy ani poprawność przedstawionych wyników.

ORYGINALNOŚĆ BADAŃ, WARTOŚĆ MERYTORYCZNA I NAUKOWA

Rozprawę doktorską, a tym samym osiągnięcie naukowe Doktorantki, stanowi cykl czterech wieloautorskich publikacji naukowych opublikowanych w czasopismach indeksowanych w bazie *Journal Citation Reports* (JCR):

- Praca nr 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 Sciences*, 13: 1556788.
- Praca nr 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, no. 8: e71986.
- Praca nr 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(1), 203–209.
- Praca nr 4:** FRĄTCZAK M., SZKUDELSKA K., GROBELNA M., HERMANIUK A., JANKOWIAK Ł., KACZMARSKI M., MYCZKO Ł., ROZENBLUT-KOŚCISTY 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.

Mocne strony osiągnięcia - wartość naukowa i oryginalność badań

Płazy należą obecnie do grup zwierząt najbardziej zagrożonych wyginięciem w skali globalnej. Ich populacje podlegają silnej presji związanej z urbanizacją, postępującą fragmentacją i degradacją siedlisk, zanieczyszczeniem środowiska, chorobami oraz wieloma innymi czynnikami antropogenicznymi i naturalnymi. W związku z tym wszelkie badania poświęcone tej niezwykle cennej przyrodniczo grupie kręgowców zasługują na uznanie i szczególną uwagę.

Autorka rozprawy podjęła się realizacji ambitnego i aktualnego problemu badawczego, rozpoczynając od wnikliwej analizy literatury przedmiotu, a następnie przechodząc do własnych badań eksperymentalnych prowadzonych z wykorzystaniem gatunków niemodelowych. Takie podejście należy ocenić bardzo wysoko, gdyż pozwala nie tylko na krytyczną ocenę dotychczasowego stanu wiedzy, lecz także na uzyskanie nowych danych naukowych mających istotne znaczenie poznawcze i aplikacyjne. Szczególnie wartościowe jest skoncentrowanie badań na gatunkach rzadziej wykorzystywanych w eksperymentach biologicznych, co pozwala poszerzyć wiedzę o reakcjach różnych grup płazów na czynniki środowiskowe i antropogeniczne oraz ogranicza powszechnie wskazywany w literaturze problem nadmiernego oparcia badań na kilku gatunkach modelowych.

W mojej ocenie wszystkie prace wchodzące w skład rozprawy prezentują ambitne założenia badawcze oraz liczne walory naukowe, które istotnie podnoszą wartość osiągnięcia Doktorantki. Podejmowana problematyka jest aktualna, ważna zarówno z poznawczego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia, a jednocześnie wpisuje się w jeden z kluczowych nurtów współczesnych badań nad wpływem czynników antropogenicznych na organizmy żywe. Poszczególne publikacje dostarczają nowych danych empirycznych, porządkują istniejący stan wiedzy oraz wskazują kierunki dalszych badań.

Prace przeglądowe nr 1–2 porządkują wiedzę w zakresie badań w kontekście wpływu *endocrine-disrupting compounds* (EDCs) na płazy. Najważniejszym osiągnięciem pracy nr 1 jest

ilościowe udokumentowanie skali problemu. Autorzy pokazali, że badania obejmują jedynie 45 gatunków płazów, co odpowiada zaledwie około 0,52% wszystkich znanych gatunków płazów.

Z kolei praca nr 2 podejmuje interesujący i stosunkowo słabo poznany aspekt oddziaływania EDCs na płazy – wpływ na komunikację rozrodczą i zachowania godowe. Autorzy wykazali, że spośród ponad 3000 przeanalizowanych publikacji jedynie 27 spełniało kryteria dotyczące zachowań reprodukcyjnych, co samo w sobie wskazuje na istotną lukę badawczą.

Pewnym ograniczeniem w przypadku prac przeglądowych nr 1 i 2 jest nierównomierna jakość danych źródłowych oraz ich mocno ograniczona liczba (27 prac w przypadku publikacji nr 2). Oczywiście nie jest to winą Autorów, lecz raczej konsekwencją dostępności danych. Niemniej jednak równorzędne traktowanie badań prowadzonych w różnych warunkach oraz nieuwzględnienie tzw. „*publication bias*” mogą prowadzić do przeszacowania skali różnic gatunkowych. Co warto podkreślić, Doktorantka ma świadomość tych ograniczeń, odnosząc się krytycznie do powyższych wątków w rozdziale Dyskusja (por. s. 32–33).

Szczególnym walorem publikacji nr 3 analizującej dymorfizm płciowy wskaźnika 2D:4D u grzebiuszki ziemnej *Pelobates fuscus* jest empiryczne udowodnienie konieczności uwzględnienia aspektu allometrii w badaniach *digit ratio* (DR) u płazów. Uzyskane wyniki dobitnie uwiarykowują, że pomijanie tej korekty (tj. allometrii) prowadzi do zafałszowanego wyniku - może maskować rzeczywiste różnice między płciami. Największą wartością artykułu jest porównanie dwóch podejść analitycznych: klasycznej analizy DR i analizy z korektą allometryczną. Praca pokazuje, że wyniki dotyczące dymorfizmu 2D:4D mogą zależeć bardziej od metod statystycznych niż od samej biologii gatunku. Paradoksalnie najciekawszym wynikiem nie jest sam dymorfizm płciowy, lecz fakt, że ten sam zbiór danych prowadzi do dwóch różnych wniosków w zależności od zastosowanej metody analizy. Bez korekty allometrycznej dymorfizmu nie ma, po korekcie jest wyraźny. To podważa część wcześniejszych badań nad 2D:4D u płazów i sugeruje konieczność ponownej analizy wielu opublikowanych danych. Jest to cenny wkład metodologiczny do badań nad DR.

Publikacja nr 4 przedstawia oryginalne wyniki badań wpływu dwóch substancji o podobnym działaniu – bisfenolu A (BPA) i etynyloestradiolu (EE2) - na kondycję somatyczną, rozwój gonad, proporcje płci oraz *digit ratio* (2D:4D) u *Pelophylax ridibundus* hodowanych w półnaturalnym systemie mezokosmów. Najsilniejszym elementem badania jest zastosowanie zintegrowanego podejścia obejmującego: histologię gonad, analizę proporcji płci, ocenę kondycji organizmu, analizę cech morfologicznych (2D:4D), ekspozycję w warunkach zbliżonych do środowiskowych. Dzięki temu autorzy oceniali nie tylko pojedynczy biomarker, ale cały zestaw cech potencjalnie związanych z zaburzeniami hormonalnymi. Najbardziej interesującym odkryciem jest rozdzielenie dwóch typów działania badanych estrogenów. EE2 powodował przede wszystkim feminizację i zaburzenia determinacji płci, podczas gdy BPA przede wszystkim uszkadzał gonady i zaburzał ich rozwój. Tym samym Autorzy udowodnili, że związki o pozornie podobnym działaniu estrogenowym mogą wywoływać zupełnie odmienne efekty biologiczne.

Uwagi polemiczne

Prace nr 1, 2 i 4 ujęte w osiągnięciu wzajemnie się uzupełniają i tworzą spójny nurt badawczy dotyczący wpływu substancji endokrynnie czynnych (EDCs) na rozwój i różnicowanie płciowe płazów. Jednocześnie nie wszystkie publikacje przedstawione do oceny w osiągnięciu wpisują się bezpośrednio w główny temat rozprawy doktorskiej, skoncentrowany na zróżnicowaniu i znaczeniu wskaźnika *digit ratio*. W konsekwencji relacja części publikacji do zasadniczego celu rozprawy wydaje się pośrednia, co rodzi wątpliwości co do zasadności ich

włączenia do osiągnięcia w obecnym układzie. W związku z powyższym za dyskusyjny uważam dobór prac zgłoszonych jako osiągnięcie naukowe. W mojej ocenie publikacje nr 1 i 2 nie mieszczą się bezpośrednio w zakresie tematycznym rozprawy, który został sformułowany jako „Zróżnicowanie i znaczenie wskaźnika palcowego (*digit ratio*) u wybranych przedstawicieli rzędu płazów bezogonowych (*Anura*)”. Z tego względu ostateczną ocenę osiągnięcia oparłem przede wszystkim na pracach nr 3 i 4.

Mając to na uwadze przeanalizowałem również całokształt dorobku naukowego Doktorantki, dostrzegając dwie alternatywne ścieżki ujęcia tematu rozprawy. Pierwsza koncentrowałaby się na badaniach dotyczących wskaźnika *digit ratio* i obejmowałaby prace nr 3 i 4, z pominięciem prac nr 1 i 2. Druga ścieżka skupiałaby się przede wszystkim na wpływie substancji zaburzających funkcjonowanie układu hormonalnego (*endocrine-disrupting chemicals*, EDCs) i opierałaby się na pracach nr 1, 2 oraz 4. W tym drugim ujęciu zasadne wydawałoby się również włączenie do rozprawy niedawno opublikowanej pracy: FRĄTCZAK i in. 2025. *Investigating Sexual Characteristics in Two Frog Species Under Exposure to River Water Polluted with Endocrine Disruptors*. *Animals*, 15(23), 3364¹. Wówczas osiągnięcie tworzyłyby cztery publikacje powiązane wspólnym i spójnym tematem badawczym. Takie rozwiązanie, w mojej opinii, wzmacniałoby merytoryczną integralność przedstawionego osiągnięcia oraz zwiększałoby przejrzystość koncepcji naukowej będącej podstawą rozprawy.

Co więcej, publikacja FRĄTCZAK i in. (2025) mogłaby być również ujęta w osiągnięciu formułowanym przez pierwszą ścieżkę, jako że w pewnym zakresie prezentuje ona wpływ EDCs na rozwój płazów, w którym *digit ratio* stanowi jeden z analizowanych wskaźników biologicznych. W mojej ocenie oba podejścia są merytorycznie uzasadnione, jednak każde z nich wymagałoby wyraźnego zdefiniowania zakresu tematycznego osiągnięcia oraz odpowiedniego doboru publikacji stanowiących jego podstawę.

Mając powyższe na uwadze, za dyskusyjny uważam również jeden z czterech celów pracy przedstawionych na s. 19 rozprawy. W mojej ocenie jego treść nie pozostaje w wystarczająco ścisłym związku z głównym tematem rozprawy, koncentrując się raczej na skutkach oddziaływania substancji endokrynnie czynnych niż na problematyce wskaźnika *digit ratio*, który zgodnie z tytułem rozprawy powinien stanowić jej centralną oś badawczą.

Ponadto, w przypadku publikacji nr 3 istotnym, choć z drugiej strony zrozumiałym, ograniczeniem jest niewielka liczebność próby (68 okazów). Autorzy analizowali cztery kończyny i wiele kombinacji palców, co przy tak dużej liczbie testów statystycznych zwiększa ryzyko uzyskania wyników przypadkowo istotnych statystycznie. Nie wiem też, czy swoistym ograniczeniem badania nie był fakt wykorzystania okazów muzealnych zabezpieczonych w etanolu, który jako środek konserwujący mógł wpłynąć na wyniki, powodując odwodnienie, deformację tkanek i kończyn, a tym samym zmieniając ich długość.

Z kolei w publikacji nr 4 ograniczeniem jest brak identyfikacji płci genetycznej. Oznacza to, że można wykazać feminizację fenotypową, ale nie można jednoznacznie potwierdzić rzeczywistego odwrócenia płci. W konsekwencji rzeczywista liczba osobników, u których doszło do zmiany płci, pozostaje nieznana. Kolejnym dyskusyjnym aspektem jest niepełna kontrola ekspozycji. Choć stężenia badanych substancji kontrolowano analitycznie, układ miał charakter statyczno-odnawialny. Autorzy sami przyznają, że mogło dochodzić do fotodegradacji, biodegradacji

¹ <https://doi.org/10.3390/ani15233364>

oraz powstawania produktów pośrednich. Nie badano jednak ich obecności ani aktywności biologicznej. Z tego względu nie można wykluczyć, że część obserwowanych efektów wynikała również z działania metabolitów BPA lub EE2. Autorzy mają świadomość powyższych ograniczeń i spostrzeżeń, podejmując te kwestie w rozdziale „Limitations”.

W rozprawie brakuje rozdziału poświęconego charakterystyce ograniczeń, które miały lub potencjalnie mogły mieć wpływ na uzyskane wyniki oraz ich interpretację. Tego rodzaju autorefleksja pozwala wskazać obszary wymagające szczególnej ostrożności interpretacyjnej, a także takie, które warto uwzględnić w przyszłych, podobnych badaniach. Stanowi ona istotne wsparcie dla czytelnika, a jednocześnie świadczy o krytycznej ocenie własnych działań badawczych. Jest to tym bardziej uzasadnione, że w pracy nr 4 Autorka podjęła taki wysiłek, zamieszczając podrozdział „4.6. Study limitations”, w którym w sposób szczegółowy opisała ograniczenia przeprowadzonych badań.

Powyższe uwagi nie umniejszają mojej wysokiej oceny opublikowanych wyników oraz ich roli w uzupełnianiu i pogłębianiu wiedzy w zakresie problematyki badawczej podejmowanej przez Doktorantkę.

PYTANIA DO DOKTORANTKI

Po lekturze rozprawy doktorskiej nasunęły mi się następujące pytania do Doktorantki:

- Czy reakcje na EDCs są konserwatywne filogenetycznie?
- Czy blisko spokrewnione gatunki reagują podobnie na EDCs?
- Które cechy biologiczne najlepiej przewidują wrażliwość na EDCs?
- Jakie są alternatywy dla 2D:4D jako biomarkera zaburzeń hormonalnych?
- Czy można ustalić płęć genetyczną u *Pelophylax ridibundus*?

WNIOSKI

Kandydatka do stopnia naukowego doktora wykazała się umiejętnością planowania, organizowania oraz prowadzenia badań naukowych. Przedłożona do oceny rozprawa doktorska prezentuje oryginalną wiedzę naukową i wnosi istotny wkład do rozwoju reprezentowanej przez Doktorantkę dyscypliny naukowej.

Opracowanie dowodzi zdolności Autorki do formułowania hipotez badawczych, właściwego doboru metod badawczych, analizy uzyskanych wyników oraz ich interpretacji w świetle aktualnego stanu wiedzy.

Rozprawa pt. *Zróżnicowanie i znaczenie wskaźnika palcowego (digit ratio) u wybranych przedstawicieli rzędu płazów bezogonowych (Anura)* obejmuje cykl publikacji odnoszących się do problematyki wpływu związków endokrynnie czynnych na rozwój oraz wybrane cechy biologii płazów. Należy przy tym zauważyć, że nie wszystkie publikacje zgłoszone jako osiągnięcie naukowe pozostają w jednakowym stopniu związane z tematem wskazanym w tytule rozprawy. Nie zmienia to jednak faktu, że całość opracowania została przygotowana zgodnie z wymogami stawianymi rozprawom doktorskim, a przedstawione wyniki potwierdzają warsztat naukowy Kandydatki oraz jej zdolność do samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

OCENA KOŃCOWA – KONKLUZJA

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. *Zróżnicowanie i znaczenie wskaźnika palcowego (digit ratio) u wybranych przedstawicieli rzędu płazów bezogonowych (Anura)* spełnia warunki określone art. 187, ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. 2018, poz. 1668 ze zm.) i wnioskuję o dopuszczenie lek. wet. Martyny FRĄTCZAK do dalszych etapów postępowania doktorskiego.



Wrocław, 3 września 2026 r.

Prof. dr hab. inż. **MARCIN KADEJ**

