



**WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

Łódź, dnia 15.02.2021 r.

Dr hab. Piotr Minias, prof. UŁ

Uniwersytet Łódzki

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

email: piotr.minias@biol.uni.lodz.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Janas

pt. „Evolutionary ecology of the carotenoid-based and structural colouration in passerine birds”

wykonanej w Zespole Ekologii Populacyjnej

Instytutu Nauk o Środowisku

Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

pod opieką prof. dr. hab. Mariusza Cichonia i dr. hab. Szymona Drobnika

Ogólna tematyka rozprawy

W swojej rozprawie doktorskiej mgr Katarzyna Janas zajęła się badaniem mechanizmów związanych ze zmiennością kolorystyki upierzenia ptaków. Jako swój model badawczy Doktorantka wybrała modraszkę, pospolitego ptaka wróblowego o jaskrawym niebisko-żółtym ubarwieniu. Taki wybór jest z jednej strony zrozumiały, gdyż barwa piór modraszki powstaje na drodze kilku różnych mechanizmów (ubarwienie karotenoidowe i strukturalne, a także pióra achromatyczne), a złożoność tych mechanizmów zapewnia spory potencjał badawczy. Z drugiej strony, modraszka znajduje się w dość wąskim gronie gatunków ptaków, których kolorystyka upierzenia była poddana względnie intensywnym badaniom w przeszłości. Fakt ten sprawia, że przeprowadzenie nowatorskich badań na tak wybranym obiekcie może stanowić pewne wyzwanie. Jak pokazuje jednak rozprawa mgr Janas, takie wyzwanie nie jest z pewnością nie do pokonania, a pomysłowe podejście eksperymentalne,

rzetelnie zgromadzony materiał badawczy, w połączeniu z nowoczesnymi technikami pomiarowymi i zaawansowaną oprawą modelowania statystycznego może przynieść zaskakująco ciekawe wyniki, w sposób istotny zwiększające nasz zrozumienie uwarunkowań ewolucyjnych oraz ekologicznych związanych z ubarwieniem ptaków.

Struktura rozprawy i jej ocena formalna

W przedłożonej do oceny rozprawie doktorskiej mgr Katarzyny Janas można wyróżnić dwie podstawowe części. Zasadniczą część rozprawy stanowią cztery rozdziały, z których trzy zawierają teksty publikacji przyjętych do druku w międzynarodowych czasopismach z listy *Journal Citation Index (JCR)*:

1. Janas, K., Podmokła, E., Lutyk, D., Dubiec, A., Gustafsson, L., Cichoń, M., Drobnik, S. (2018). Influence of haemosporidian infection status on structural and carotenoid-based colouration in the blue tit *Cyanistes caeruleus*. *Journal of Avian Biology* 49: e01840.
2. Janas, K., Lutyk, D., Sudyka, J., Dubiec, A., Gustafsson, L., Cichoń, M., Drobnik, S. (2020). Carotenoid-based coloration correlates with the hatching date of Blue Tit *Cyanistes caeruleus* nestlings. *Ibis* 162: 645-654.
3. Janas, K., Łatkiewicz, A., Parnell, A., Lutyk, D., Barczyk, J., Shawkey, M. D., Gustafsson, L., Cichoń, M., Drobnik, S.M. (2020). Differential effects of early growth conditions on colour-producing nanostructures revealed through small angle X-ray scattering and electron microscopy. *Journal of Experimental Biology* 223: jeb228387.

Czwarty rozdział to manuskrypt przygotowany do publikacji, który w momencie składania rozprawy do recenzji nie został jeszcze przyjęty do druku:

4. Janas, K., Gawęł, P., Łatkiewicz, A., Lutyk, D., Gustafsson, L., Cichoń, M., Drobnik, S.M. Sexual dichromatism, size dimorphism and microscale anatomy of white wing stripe in blue tits (*Cyanistes caeruleus*).

Opublikowane prace ukazały się w druku w latach 2018-2020 w renomowanych czasopismach ornitologicznych (rozdział 1 i 2) oraz w czasopiśmie ogólnobiologicznym o wskaźniku *Impact Factor* od 1.750 do 3.014 (wg aktualnego wykazu). We wszystkich pracach Doktorantka była pierwszą autorką, a jej udział w powstaniu poszczególnych rozdziałów rozprawy był wiodący, zarówno na etapie tworzenia koncepcji badań (40-60%), wykonywania analiz i interpretacji wyników (50-60 %), a także

przygotowywania samych manuskryptów (55-65 %). Jest to szczególnie istotne, zważywszy na wieloautorski charakter prac stanowiących podstawę rozprawy (7-9 autorów na pracę) i świadczy o dużej samodzielności naukowej i zaangażowaniu Doktorantki.

Poza rozdziałami stanowiącymi podstawę rozprawy, Doktorantka zamieściła w swojej pracy obszernie streszczenia w języku polskim i angielskim (niemal trzy strony maszynopisu każde), a także ogólny wstęp, metodykę i dyskusję. Części te są doskonałym wprowadzeniem do koncepcji badań prowadzonych przez Doktorantkę, a także warsztatu metodologicznego wykorzystywanego przez nią w trakcie prac związanych z przygotowaniem rozprawy. Jednocześnie, w sposób syntetyczny i klarowny podsumowują one i łączą tematykę czterech podstawowych rozdziałów rozprawy, przedstawiając jednocześnie spójną interpretację wyników i końcowe wnioski. Warto też zauważyć, że całość tej części rozprawy (poza polskim streszczeniem) została napisana w języku angielskim, co może ułatwić jej funkcjonowanie w obiegu międzynarodowym.

Ocena merytoryczna

Rozdział I. Celem pierwszego rozdziału było przetestowanie zależności między prevalencją infekcji pasożytami krwi (*Plasmodium* i *Haemoproteus*) z natężeniem ubarwienia strukturalnego i karotenoidowego piór u modraszki. Przeciwnie do postawionych predykcji, analizy wykazały pozytywny związek obecności pasożytów z natężeniem ubarwienia. Ten zaskakujący wynik wytłumaczony został potencjalnie większą śmiertelnością ptaków o gorszej jakości ubarwienia piór we wczesnych, ostrych fazach zakażenia pasożytami. Mimo, że taki scenariusz jest oczywiście możliwy, to zastanawiam czy Doktorantka rozważyła alternatywne wyjaśnienia, gdzie jakość upierzenia koreluje raczej z ryzykiem infekcji, a nie śmiertelnością? Czy jest prawdopodobnym, żeby ptaki o lepszym upierzeniu wykazywały jakieś cechy, które potencjalnie mogą zwiększać ryzyko zakażenia pasożytami (np. większą eksploratywność)? A może barwniejsze osobniki zajmują lepszej jakości miejsca (budki) lęgowe? Takie budki zajmowane są pewnie bardziej regularnie, corocznie, co z kolei może zwiększać ryzyko kontaktów z pasożytami gniazdowymi, np. wpleszczami Hippoboscidae, które z kolei są wektorami pasożytów krwi ptaków. W każdym razie zabrakło mi trochę szerszej dyskusji uzyskanych wyników, które same w sobie są bardzo ciekawe. Dodatkowo, pewien zamęt wkraść się w organizację elektronicznego suplementu i prezentowanych tam wyników analiz statystycznych. Modelowanie zostało wykonane sekwencyjnie poprzez stopniowe usuwanie kolejnych efektów interakcji, a w tabelach A1 i A8 pojawia się spis modeli statystycznych, które zostały wykonane. Nie do końca jest on jednak zgodny ze stanem faktycznym. Na przykład dla

zmiennej „breast chroma” (Tabela A8) powinny być zaprezentowane trzy modele, a faktycznie pojawiają się tylko dwa (Tabela A14). Z kolei dla zmiennej „breast visible hue” nie został w ogóle zaprezentowany model z dwoma interakcjami, a jedynie z trzema (Tabela A13) i z jedną (Tabela 2). W końcu, dla zmiennej „crown hue” trzeci model z suplementu powtarza się z modelem zamieszczonym w głównej części pracy (Tabela 1) i na dodatek jedna z podanych wartości p (dla efektu roku 2015) różni się między oboma wersjami tabeli. Powoduje to wrażenie pewnej chaotyczności w prezentowaniu wyników analiz statystycznych.

Rozdział II. W rozdziale drugim testowane są hipotezy dotyczące zmienności sezonowej kolorystyki upierzenia piskląt modraszki. Podstawowa hipoteza tych badań zakładała, że pisklęta wyklute później w trakcie sezonu rozrodczego powinny wykazywać niższe natężenie karotenoidowego ubarwienia piór ze względu na obniżenie dostępności podstawowego pokarmu (gąsienic) oraz niższą jakość ptaków przystępujących późno do lęgów. Doktorantka przewidywała również, że mechanizm ten powinien być mocniej zaznaczony u samców niż u samic. Analiza pomiarów spektrofotometrycznych piór dała empiryczne potwierdzenie dla obu tych hipotez. Same analizy zostały przeprowadzone bardzo rzetelnie, jednak największe wrażenie robi wielkość próby, którą wykorzystano w badaniu, obejmującej ponad 2200 piskląt z ponad 250 gniazd. Taka wielkość próby nie tylko zdecydowanie wykracza poza standardy spotykane w analogicznych pracach, ale wiąże się z ogromnymi nakładami czasowymi niezbędnymi nie tylko do zebrania materiału w terenie, ale także do wykonania żmudnych (powtarzanych dziesięciokrotnie na każdej zebranej próbce piór) pomiarów spektrofotometrycznych. Niniejszym, Doktorantce należy się szczere uznanie za podjęcie się zebrania i analizy tak pracochłonnego materiału.

Rozdział III. Rozdział ten jest z pewnością najbardziej nowatorski i zdecydowanie najciekawszy pod względem metodyki wykorzystanej do pomiarów cech związanych z ubarwieniem piór. W obu poprzednich rozdziałach Doktorantka wykorzystywała tradycyjne metody spektrofotometryczne do pomiarów współczynnika odbicia światła od powierzchni piór, co umożliwia ilościowe określenie różnych komponentów ich ubarwienia. W niniejszym rozdziale metody te zostały wzbogacone o zaawansowane techniki mikroskopowe wykorzystane do określenia cech strukturalnych piór ogonowych modraszki biorących udział w wytwarzaniu ich niebieskiej barwy. Ten bogaty wachlarz metodologiczny został zestawiony z przemyślnie zaplanowanym układem eksperymentalnym, w którym wykonywano manipulacje wielkości lęgów modraszek na dwóch różnych fazach rozwoju piskląt. W założeniu, takie podejście miało umożliwić identyfikację etapów kluczowych dla rozwoju

ubarwienia strukturalnego piór modraszki w okresie wzrostu piskląt. Do najważniejszych wyników pracy należało wykazanie negatywnego wpływu powiększania płuc na wielkość mikrostruktur keratynowych oraz tempo rozwoju piór ogonowych, ale efekt ten miał miejsce jedynie w płucach powiększonych na późnym etapie wzrostu piskląt, wskazując, że może być to etap kluczowy dla rozwoju ubarwienia piór. W mojej ocenie całe badanie zostało doskonale zaplanowane i przeprowadzone na bardzo wysokim poziomie rzetelności naukowej, co zaowocowało publikacją w wysoko profilowym ogólnobiologicznym periodyku naukowym (*Journal of Experimental Biology*). Z drobnych uwag technicznych, zdzwiony byłam prezentacją median i wartości ekstremalnych na wykresach ramkowych. Prezentowane zmienne wykorzystywane były jako zmienne zależne w ogólnych liniowych modelach mieszanych, a więc powinny mieć rozkłady zbieżne z normalnymi. Zwyczajowo dla zmiennych o takich rozkładach prezentujemy na wykresach średnie i błąd standardowy lub przedziały ufności – daje to lepszy obraz zróżnicowania wartości w obrębie grup, a także różnic między grupami.

Rozdział IV. Hipotezy stawiane w czwartym rozdziale dotyczą funkcji białego paska skrzydłowego u modraszki. Doktorantce (wraz ze współpracownikami) udało się wykazać dymorfizm płciowy w zakresie wielkości oraz właściwości spektrofotometrycznych białych końcówek pokryw drugorzędowych, a także ich korelacje z cechami ubarwienia innych części ciała (np. ubarwieniem niebieskich piór na szczycie głowy). Doktorantka opisała również nanostruktury odpowiedzialne za powstanie achromatyzmu tej części upierzenia, natomiast nie znalazła dowodów na korelacje cech paska skrzydłowego z kondycją ptaków. Rozdział ten jest jedynym rozdziałem, który nie został jeszcze przyjęty do druku w czasopiśmie naukowym (przynajmniej na etapie wysyłania rozprawy do recenzji), i jako taki, nie został poddany rygorystycznym recenzjom związanym z procesem publikacji. W efekcie, w rozdziale tym można znaleźć pewne nieścisłości, które wymagają wyjaśnień. Po pierwsze, odnoszę wrażenie, że część analizowanych modeli może mieć problemy z multikolinearnością zmiennych niezależnych. Na przykład, efekt jasności piór korony jest nieistotny jako predyktor jasności białych plam na pokrywach, ale może to wynikać z wysoce istotnej ($P < 0.001$) korelacji z jasnością niebieskiej chorągiewki pokryw, która została uwzględniona jako inny predyktor w tym samym modelu. Zresztą jak sama Doktorantka wspomina, mimo braku istotności efektu jasności piór korony w modelu wieloczynnikowym, przetestowanie analogicznej zależności w układzie jednoczynnikowym prowadzi do zgoła odmiennych wniosków (istotna pozytywna korelacja). Doktorantka wprawdzie zaznacza w metodach, że kontrolowała problem multikolinearności weryfikując czynniki inflacji wariancji (VIF), ale żadne szczegóły nie zostały podane, trudno więc wywnioskować w jaki sposób ta kontrola w rzeczywistości przebiegała. Nie do końca jest również dla

mniej jasna analiza składowych głównych (PCA). Jako jej cel Doktorantka podaje próbę zrozumienia wzorców zależności między wielkością i właściwościami spektrofotometrycznymi białych plam na pokrywach, a niebieskimi piórami szczytu głowy. W świetle takiej argumentacji, niejasnym jest czemu do zestawu cech opisujących ubarwienie różnych partii upierzenia została włączona kondycja ptaków. Dodatkowo, Doktorantka uwzględniła w tej analizie długość pokryw oraz długość skoku (tarsus), wykorzystując je jako miary strukturalnej wielkości ciała ptaków, mam jednak wątpliwość czy takie uzasadnienie jest zasadne i czy długość pokryw faktycznie może w sposób wiarygodny odzwierciedlać wielkość całego ptaka. W tekście pojawiają również drobne niezgodności, na przykład w pierwszym akapicie dyskusji pojawia się stwierdzenie, że zarówno jasność jak i wysycenie w obszarze UV niebieskiej części pokryw jest wyższe u samców, ale z części wynikowej wynika, że jasność tej części piór jest wyższa u samic. W końcu, ocenę samych wyników modelowania statystycznego utrudnia nieco brak wskazania w tabelach kategorii referencyjnych dla czynników stałych – zwyczaj skrupulatnie przestrzegany w poprzednich rozdziałach.

Pozostałe części rozprawy. Ogólny wstęp, metodyka i dyskusja napisane są klarownie i spójnie, bardzo dobrze wprowadzają czytelnika w problematykę badawczą i przedstawiają syntetyczny opis najważniejszych wyników oraz ich interpretacje. Wszystkie te części zostały napisane na wysokim merytorycznym i językowym poziomie. Na tym tle trochę zaskakuje tekst polskiego streszczenia, w którym pojawiają się drobne nieścisłości terminologiczne. Na przykład, ranga taksonomiczna *Plasmodium* i *Haemoproteus* to rodzaj, a nie rodzina jak Doktorantka wskazuje w streszczeniu. Podobnie, obecnie obowiązującą nazwą gatunkową obiektu badań Doktorantki jest modraszka (zgodnie z Mielczarek P, Cichocki W (1999) Polskie nazewnictwo ptaków świata. Bogucki Wydawnictwo Naukowe), a nie sikora modra. W końcu, obszar występowania niebieskich piór na wierzchniej części głowy modraszki raz nazywany jest koroną, a raz czapeczką, co może powodować pewne zdezorientowanie czytelnika. Podobne nieścisłości nie pojawiają się jednak w angielskiej wersji streszczenia i w zasadzie nie wpływają na całościowy, pozytywny odbiór tej części rozprawy doktorskiej.

Podsumowanie

Podsumowując, uważam, że rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Janas stoi na wysokim merytorycznym poziomie, jej wyniki są nowatorskie i uzyskane na drodze rzetelnych naukowych

badań, a co więcej większość z nich została opublikowana w prestiżowych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Mimo nielicznych uwag natury polemicznej (np. kwestia interpretacji części wyników) lub technicznej (np. prezentowanie wyników analiz statystycznych) moja ocena całości rozprawy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Janas jest jednoznacznie pozytywna i mam pełne przekonanie, że spełnia ona wymogi stawiane przez Ustawę z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595; z 2005 r. Nr 164, poz. 1365; z 2010 r. Nr 96, poz. 620, Nr 182, poz. 1228; z 2011 r. Nr 84, poz. 455). Na tej podstawie wnoszę o **dopuszczenie mgr Katarzyny Janas do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki biologiczne.**

