

Prof. dr hab. Marek Konarzewski
Wydział Biologii
Uniwersytet w Białymstoku
15-950 Białystok
Ul. Ciołkowskiego 1J

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr Bartosza Schramma

pt. „**Variation in cell size and body composition in the Carabidae beetles – an ecophysiological perspective**”

Na zasadniczą część przedłożonej mi dysertacji doktorskiej mgr Bartosza Schramma składają się trzy pierwszo-autorskie publikacje poświęcone ważnemu dla nauki problemowi badawczemu. Publikacje te przeszły przez sito recenzji redakcyjnych międzynarodowych periodyków i w związku z tym, o ile były obarczone istotnymi uchybieniami, to mankamenty te zostały usunięte w procesie oceny recenzenckiej. Tym nie mniej szereg szczegółowych wątków dysertacji wzbudziło moje wątpliwości i pytania, które sprecyzuję w dalszej części recenzji.

Ocena naukowego znaczenia tematyki rozprawy

Naukowym celem rozprawy doktorskiej mgr Bartosza Schramma było testowanie hipotez odnoszących się do mechanizmów warunkujących jedną z najważniejszych zależności biologicznych, jaką jest skalowanie tempa metabolizmu tlenowego z masą ciała. Zależność ta obejmuje cały świat ożywiony i jak dotąd nie doczekała się satysfakcjonującego, powszechnie akceptowanego wyjaśnienia. W dysertacji Doktorant skupił się na dwóch istotnych determinantach (mechanizmach) skalowania- wzorcach zmian proporcji tkanek o różnym tempie metabolizmu oraz na zróżnicowaniu wielkości komórek budujących te tkanki. Wybór tematyki rozprawy sam w sobie nie jest nowatorski, gdyż obydwu mechanizmom poświęcono już w literaturze przedmiotu wiele uwagi. Tym nie mniej oceniana rozprawa doktorska wnosi do badań nad skalowaniem nową wiedzę uzyskaną dzięki zastosowaniu autorskiej metodologii i ciekawego modelu badawczego. Z racji doniósłości naukowej oraz oryginalności obranego podejścia badawczego uznaję tematykę podjętą w dysertacji za jak najbardziej uzasadnioną i istotną z poznawczego punktu widzenia.

2. Poprawność wnioskowania i szczegółowa analiza osiągniętych rezultatów

Przywołany wyżej naukowy cel rozprawy został osiągnięty za pomocą interesującego modelu badawczego, którym były zróżnicowane pod względem wielkości ciała gatunki chrząszczy z rodziny biegaczowatych (*Carabidae*). Dobór ten miał głębokie uzasadnienie metodologiczne zasadzające się na wykorzystaniu znaczącej rozpiętości masy ciała biegaczy, przy jednoczesnym zachowaniu bardzo zbliżonego planu budowy morfologicznej i anatomicznej tej grupy owadów. Równie ważne, przynajmniej w założeniu, było bliskie pokrewieństwo filogenetyczne badanych gatunków, co w zamyśle Doktoranta miało ograniczyć niepożądany wpływ efektów filogenetycznych na analizę porównawczą. Założenie to nie okazało się do końca spełnione, do czego odniosę się w dalszej części recenzji.

Jednakże najważniejszym powodem wyboru biegaczowatych jako obiektu badań była możliwość zastosowania pomiaru wielkości komórek tworzących fasetki (ommatidia) jako pośredniego wskaźnika wielkości komórek budujących inne tkanki ciała chrząszczy. Jak sądzę, wybór ten był inspirowany wcześniejszymi badaniami grupy Stevena Chowna, który zastosował taki pomiar w analizie wpływu wielkości komórek na zróżnicowanie tempa metabolizmu mrówek (Chown et al. 2007, praca cytowana wielokrotnie w dysertacji). Nie czynię z tej konstatacji zarzutu, wprost przeciwnie uważam, że inspirowanie się osiągnięciami innych badaczy jest motorem postępu naukowego. Muszę jednak zauważyć, że obranie komórek ommatidiów jako wskaźnika (*proxy*) wielkości komórek innych tkanek wymagałoby jednoznacznego wykazania silnej korelacji między rozmiarami komórek budujących poszczególne tkanki istotne pod względem tempa metabolizmu, a zatem jego skalowania. Tego ważkiego kroku metodologicznego w ocenianej rozprawie zabrakło, co niestety, osłabia jej konkluzje.

Za drugą, poważną słabość wnioskowania Doktoranta uważam brak bezpośredniej weryfikacji negatywnej zależności między wielkością komórek i ich tempem metabolizmu tlenowego. To prawda, istnieje szereg badań, na które powołuje się Doktorant, raportujących taką zależność. Jednakże są również badania (w tym cytowane w dysertacji, np., Maciak i in. 2014) wskazujące, że wzrost tempa metabolizmu całego organizmu może iść w parze ze zwiększeniem wielkości komórek, a nie ich zmniejszeniem, co zakłada TOCS (*theory of optimal cell size*), na której bazuje rozumowanie Doktoranta. Oczywiście, trudno byłoby oczekiwać, że dysertacja w sposób absolutnie wszechstronny udokumentuje stosownymi wynikami wszystkie pośrednie etapy wnioskowania. Tym nie mniej spodziewałbym się w jej tekście,

najpewniej w podsumowującej rezultaty dyskusji ogólnej, krytycznego odniesienia się do brakujących elementów materiałowego podparcia formułowanych konkluzji. Takiego odniesienia w dyskusji zabrakło.

Jak wspominałem na wstępie, na zasadniczą część rozprawy doktorskiej mgr Bartosza Schramma składają się trzy artykuły opublikowane w międzynarodowych czasopismach naukowych. Odniosę się do nich zgodnie z kolejnością zamieszczenia w dysertacji, poczynając od artykułu Schramm i in. (2018) „Automated measurement of ommatidia in the compound eyes of beetles” ogłoszonej w *BioTechniques*. Publikacja ta przedstawia efektywną metodę obliczeniową zastosowaną do analizy obrazu, umożliwiającą 70-krotne zmniejszenie nakładu pracy niezbędnego do dokonania pomiaru obszaru powierzchni ommatidiów u chrząszczy. Poza opracowaniem algorytmu, Doktorant porównał wyniki pomiarów dokonanych za pomocą manualnej, bardzo żmudnej oceny wielkości ommatidiów z tymi, uzyskanymi z użyciem zautomatyzowanego zliczania. Wykazał przy tym, że automatyzacja nie odbija się na jakości uzyskanych wyników.

Doceniając inwencję i biegłość warsztatową Doktoranta chciałbym sformułować dwie uwagi. Po pierwsze, w omawianej pracy zabrakło mi oszacowania powtarzalności przedstawianych metod, wyrażonej choćby w najprostszej postaci, np., korelacji wewnątrzklasowej. Pewien wgląd w powtarzalność daje porównanie przedziałów ufności prezentowanych na rycinie 2 publikacji. Z tak zgrubnej analizy wnioskuję, że oszacowanie wielkości ommatidiów nie jest jednakowo precyzyjne u wszystkich gatunków, gdyż dla *Carabus nemoralis* przedziały ufności są dwukrotnie szersze, niż dla pozostałych dwu gatunków. Po drugie, wobec zróżnicowanej niepewności pomiarowej uważam, że czynnik ten powinien być uwzględniony w dalszych analizach porównawczych wielkości komórek. Wydaje mi się to godne rozważenia ze względu na dużą wariację wielkości ommatidiów, widoczną na rycinach zamieszczonych w trzeciej publikacji wchodzącej w skład dysertacji, do której powrócę poniżej.

Następną pozycją składającą się na recenzowaną rozprawę jest artykuł Schramm i in. 2018 ‘Effects of fat and exoskeletal mass on the mass scaling of metabolism in *Carabidae* beetles’ ogłoszony w *J. Insect Physiology*. Sformułowano w niej precyzyjną hipotezę wskazującą na spodziewany kierunek różnicy w aktywności metabolicznej komponentów budowy anatomicznej małych i dużych biegaczy. W ślad za wcześniejszymi pracami innych badaczy, Doktorant spodziewał się nieproporcjonalnie wyższego udziału metabolicznie

nieaktywnego tłuszczu i egzoszkieletu w budowie ciała większych chrząszczy. Wyniki nie potwierdziły tego założenia, co było niespodziewanym, ale dobrze udokumentowanym zaprzeczeniem hipotezy, wedle której zmiana proporcji aktywnych vs. nieaktywnych metabolicznie tkanek jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za skalowanie tempa metabolizmu względem masy ciała. Choć konkluzja ta jest moim zdaniem dobrze ugruntowana, to szczegółowa lektura omawianego artykułu nasunęła mi kilka pytań.

Po pierwsze zabrakło w nim wyjaśnienia przyczyn, dla których wartości skalowania tempa metabolizmu różniły się istotnie między analizami uwzględniającymi korekcję o pokrewieństwo filogenetyczne (współczynnik skalowania $b=0.54$) względem analizy pomijającej efekty filogenetyczne (współczynnik $b=0.72$). W artykule (jak również w dysertacji) zabrakło przedstawienia zastosowanego drzewa filogenetycznego, co być może pomogłoby zidentyfikować przyczynę w postaci, np., ważącej w szczególny sposób grupy gatunków (bądź gatunku). Jest to szczególnie znaczące w sytuacji, gdy w kolejnym artykule wchodzącym w skład dysertacji pokrewieństwo filogenetyczne okazało się być nieistotnym czynnikiem w analizie skalowania tempa metabolizmu. Po drugie, przedziały ufności współczynników skalowania są dosyć obszerne (w przypadku analizy z korekcją filogenetyczną CI zawiera się między 0,38 a 0,70, *vide* Tabela 1), co wydaje się wskazywać albo na małą powtarzalność pomiarów tempa metabolizmu części gatunków, bądź też na dodatkową zmienność wnoszoną przez czynniki filogenetyczne. Niestety, dysertacja nie zawiera szczegółowych danych dotyczących pomiarów tempa metabolizmu i analiz filogenetycznych, wobec czego nie byłem w stanie tych wątpliwości rozstrzygnąć. Przy okazji dodam również, że sekcja 2.2 *Respiration Rate* prezentuje zbyt zdawkowe informacje na temat zastosowanej metodologii pomiarów respirometrycznych, i aby się o nich więcej dowiedzieć, trzeba sięgnąć do prac Gudowska i in. 2016 i 2017, co nie ułatwia lektury.

Na koniec poczynię uwagę, do której zainspirował mnie jeden z wątków dyskusji omawianej publikacji. Na stronie 236 przedstawiono w niej sugestię, że wyższy udział lipidów w budowie anatomicznej małych chrząszczy może się wiązać z relatywnie większym ciałem tłuszczowym, które nie tylko pełni funkcję magazynową, ale jest również odpowiednikiem wątroby kręgowców. Mogłoby to do pewnego stopnia tłumaczyć nieoczekiwany wzorec zmienności otłuszczenia chrząszczy względem ich masy ciała i tempa metabolizmu. Zgadzam się zatem z konkluzją tej części dysertacji, wskazującą na niebezpieczeństwo zbyt upraszczającego podejścia do złożonego zagadnienia skalowania tempa metabolizmu.

Na trzecią część recenzowanej rozprawy składa się artykuł Schramm i in. 2021, 'Concerted evolution of body mass, cell size and metabolic rate among carabid beetles?' opublikowany w *J. Insect Physiology*. Doktorant wykorzystał w nim metodologię opisaną w pierwszym artykule rozprawy, w tym algorytmy uczenia maszynowego, do pomiaru wielkości komórek w ommatidiach i kanalików cewek Malpighiego u różnych gatunków chrząszczy, a następnie zbadał skalowanie tych parametrów względem masy ciała i tempa metabolizmu. Wykazał przy tym, że wielkość komórek rośnie wraz z wielkością ciała oraz że jest ona odwrotnie proporcjonalna do tempa metabolizmu przeliczonego na jednostkę masy ciała. Są to wartościowe wyniki, wspierające nieliczne jak dotąd doniesienia literaturowe wskazujące na silny związek wielkości komórek z tempem metabolizmu.

O ile pod względem jakościowym konkluzje omawianej pracy nie budzą moich wątpliwości, to szczegółowe wyniki skłaniają mnie do sformułowania kilku uwag. Jak już wyżej wspomniałem, skalowanie tempa metabolizmu przedstawione w omawianej pracy różni się od tego, raportowanego w drugim artykule wchodzącym w skład rozprawy. Brak odniesienia w rozprawie do tej ważnej kwestii wydaje mi się wartym zaznaczenia uchybieniem. Ponadto, jak wspomniałem wcześniej, rozumowanie Doktoranta opiera się na silnym, niesprawdzonym założeniu o korelacji wielkości komórek budujących poszczególne tkanki ciała. Nie rozumiem, dlaczego takiej korelacji nie przedstawiono przynajmniej w odniesieniu do komórek ommatidiów i kanalikach cewek Malpighiego- danych wykorzystanych w dyskutowanym artykule. Muszę też przyznać, że fragmenty dyskusji ze str. 7 i 8 artykułu odnoszące się do specyficznych wartości współczynnika skalowania tempa metabolizmu nie są zbyt przekonujące, w kontekście szerokich przedziałów ufności przedstawionych w Tabeli 1. Z pewnością jednak najważniejsze wyniki pracy są solidnie udokumentowane.

Forma prezentacji rozprawy

Pod względem redakcyjnym i estetycznym rozprawa nie budzi większych zastrzeżeń. Najważniejsze rozdziały składające się na dysertację są wydrukami trzech opublikowanych, anglojęzycznych artykułów naukowych. Poprzedzający je angielskojęzyczny wstęp unaocznia dobrą orientację Doktoranta w podjętej tematyce. Natomiast zamieszczona po artykułach dyskusja ogólna w zbyt dużym stopniu powtarza zawarte w nich treści (np., str. 54) i przydaje zbyt wielkiego znaczenia konkretnym wartościom oszacowania współczynników skalowania w

sytuacji, gdy są one obarczone tak znacznymi niepewnościami (str. 51). Bardziej stosowne byłoby skupienie się w niej na wątpliwościach podniesionych w mojej recenzji.

Wnioski końcowe

Przy wszystkich sformułowanych wyżej wątpliwościach wartość naukową dysertacji oceniam wysoko, gdyż podjęta w niej tematyka plasuje się w centrum ważnego kierunku badań światowej biologii, a szczegółowe wyniki stanowią rozpoznawalny wkład w jego dalszy rozwój. Rozprawa mgr Bartosza Schramma jest oryginalnym dziełem spełniającym warunki wymagane do uzyskania stopnia doktora, określone w zapisów Art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

Z przekonaniem wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Bartosza Schramma do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Białystok, 10.02.2023



Prof. dr hab. Marek Konarzewski