

Prof. dr hab. Jerzy Bańbura

Katedra Zoologii Doświadczalnej i Biologii Ewolucyjnej

Uniwersytetu Łódzkiego

Recenzja rozprawy doktorskiej

Imię i nazwisko kandydata: mgr Agata Bury

Tytuł rozprawy doktorskiej: **The relationship between hematological parameters and metabolic rates in birds**

Promotor: Prof. dr hab. Mariusz Cichoń

Kopromotor (jeżeli powołany): Dr Edyta T. Sadowska

Pod względem tematycznym rozprawa doktorska mgr Agaty Bury prezentuje oryginalne wyniki eksploracji wpływu różnych czynników aktywności fizycznej osobników, generujących koszty metaboliczne, na kilka wybranych parametrów krwi ptaków, utrzymywanych w hodowli zeberek *Taeniopygia guttata* i dziko-żyjących sikor bogatek *Parus major*. W przypadku pierwszego z tych gatunków, przeprowadzono doświadczenia w warunkach laboratoryjnych, natomiast w przypadku drugiego, eksperymenty terenowe. Badane parametry krwi to: stężenie hemoglobiny, hematokryt, liczba erytrocytów i pole powierzchni erytrocytów. Ponieważ danych o gatunkach innych niż kura domowa, a już szczególnie o ptakach wróblowych jest niewiele, to praca ta przyczynia się niewątpliwie do wypełnienia pewnej luki w wiedzy z zakresu ekofizjologii ważnej z naukowej perspektywy grupy organizmów.

Głównym przewidywaniem projektu mgr Agaty Bury było to, że parametry czerwono krwinkowe ptaków, funkcjonalnie powiązane z transportem tlenu, powinny wykazywać związek z metabolizmem energetycznym i powinny reagować na narzucony doświadczalnie zwiększony lub zmniejszony wysiłek fizyczny, powodujący koszty metaboliczne i zwiększone zapotrzebowanie na tlen. Taki kosztowny wysiłek fizyczny był stymulowany poprzez zabiegi eksperymentalne: (i) długoterminowy trening v. epizodyczne, intensywne ćwiczenie (eksperyment I); (ii) aklimacja do zadanych warunków termicznych (eksperyment II); oraz (iii) zmiana wysiłku włożonego w opiekę nad pisklętami poprzez manipulację liczbą piskląt (eksperyment III). Wyniki eksperymentów okazały się w większości odwrotne w stosunku do uproszczonego przewidywania. W większości przypadków zmienne czerwono krwinkowe zmniejszyły swoje wartości w stosunku do zabiegów doświadczalnych, które w założeniu powinny spowodować zwiększone zapotrzebowanie na tlen. Wykrycie wzorców niezgodnych z szeroko przyjmowanymi przekonaniem to marzenie każdego naukowca, więc uzyskanie takich wyników przy realizacji doktoratu samo w sobie podnosi jego wagę.

Dlatego bez wątpienia omawiana rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i zawiera ciekawą dyskusję. Jak każde oryginalne osiągnięcie, także to generuje kolejne pytania i problemy do rozwiązania. Oczywiście dalszym krokiem byłyby nowe eksperymenty i obserwacje, w szerszym kontekście fizjologicznym, biochemicznym i ekologicznym, żeby sprawę głębiej wyjaśnić, co oczywiście nie może być zrealizowane w tym samym projekcie doktorskim.

Analiza rozprawy wskazuje jednoznacznie, że jest ona oryginalnym dziełem twórczym. Jednoznacznie świadczy o dojrzałości Doktorantki jako badaczki odznaczającej się umiejętnościami i wiedzą, umożliwiającymi samodzielne rozwiązywanie problemów naukowych i prowadzenie badań biologicznych.

Dane oryginalne dotyczące zeberek pochodzą bezpośrednio z dwóch już opublikowanych prac, w uznanych czasopismach naukowych *Journal of Experimental Biology* i *Journal of Avian Biology*, natomiast w przypadku sikor bogatek z manuskryptu przygotowywanego do złożenia do redakcji. Wszystkie trzy prace są wieloautorskie, jednak odpowiednio znaczący udział Doktorantki nie budzi wątpliwości. Publikacje w renomowanych czasopismach branżowych, uzupełnione jeszcze niepublikowanym manuskrytem, świadczą jednoznacznie o wysokim poziomie oryginalnych badań wykonanych na potrzeby recenzowanego projektu doktorskiego. Już w tej części recenzji deklaruje, że uważam recenzowaną rozprawę za spełniającą kryteria nadania stopnia naukowego doktora. To nie oznacza, że nie będę miał uwag krytycznych.

Konstrukcja rozprawy jest taka, że nie włączono do niej bezpośrednio spinki dwóch wydanych już publikacji wspomnianych powyżej i niepublikowanego manuskryptu, ale przedstawiono osobno napisany tekst w języku angielskim, który te pierwotne, oryginalne prace przedstawia w formie tradycyjnej, jednolitej pracy doktorskiej. W ten sposób Doktorantka uniknęła konieczności powtarzania tych samych elementów teoretycznych i metodycznych. Taka forma rozprawy doktorskiej umożliwiała właściwie dodanie różnych materiałów uzupełniających trzy prace składowe, takich jak jakieś dodatkowe analizy, rysunki czy tabele oraz szerszy tekst teoretyczno-przeglądowy, ale poza fragmentami części dyskusyjnej Doktorantka nie skorzystała z tej okazji.

Chociaż bez wątpienia zabiegi wykonane w eksperymencie I, tj. długotrwały trening i epizodyczne, krótkotrwałe pobudzenie do lotu, przekładają się na koszty energetyczne, to jednak nie rozumiem, jakie naturalne zjawiska w życiu zeberek miałyby one naśladować i co jest w efekcie punktem odniesienia? Stan podobny do „treningu” jest chyba w naturze stanem normalnym dla zeberek w cyklu dobowym w każdym sezonie roku, a stan ograniczonego ruchu w ptaszarni wydaje się czymś raczej nienormalnym. Jakie naturalne zjawisko miałyby naśladować prowadzenie krótkotrwałych „ćwiczeń”? Ekofizjologia kosztownego wysiłku energetycznego ptaków może być bardziej skomplikowana niż fizjologia wysiłku w ramach treningu sportowego ludzi czy koni nastawionego na

uzyskanie określonych wyników sportowych. Warto byłoby to przeanalizować na gruncie tego, co o zeberkach wiadomo już we wstępie, a następnie w interpretacji wyników.

Eksperyment z kosztami termoregulacyjnymi w różnych warunkach termicznych (eksperyment II) jest klarowniejszy, gdyż obejmuje zabieg utrzymywania zeberek w warunkach termoneutralnych i w warunkach chłodu. Jednakże i on mógłby mieć szersze, wnikliwsze wprowadzenie i omówienie, zwłaszcza w dysertacji, bez ograniczeń narzucanych przez redakcję czasopisma. Zeberki w eksperymencie były utrzymywane w komorach klimatycznych; czy jednak pochodziły z hodowli w ptaszarni zewnętrznej?

Eksperyment terenowy na bogatkach jasno wiąże się ze zróżnicowaniem ważnego w naturze czynnika, jakim jest wysiłek włożony w wychowanie potomstwa. Tu jednak nie są jasne wszystkie elementy charakterystyki próby ptaków i ich lęgów. Nie przedstawiono osobno charakterystyki ilościowej próby schwytanych ptaków dorosłych i tylko na podstawie Tabeli 3 można się domyślać, w jakiej części próby ptaków udało się schwycić i samice, i samca oraz czy wynikająca z tego proporcja płci była jednakowa w obu latach. Nie przedstawiono także żadnej informacji, jak w badanej populacji i w obu latach kształtowała się wielkość lęgów sikor, co czyni przyjętą w procedurze eksperymentalnej zmiany wielkości lęgu progową wartość 12 piskląt wartością czysto arbitralną. Jaka część lęgów osiągnęła tę wartość? Czyli ostatecznie w ilu przypadkach przenoszono 3, a w ilu 4 pisklęta? Takie podstawowe informacje o badanej populacji dałyby czytelnikowi lepsze zrozumienie tła przeprowadzonych eksperymentów.

Mam pewne wątpliwości o charakterze technicznym do przedstawionego w pracy materiału, a także dość istotną uwagę statystyczną do analizy danych we wszystkich trzech wątkach, również analizy zawartej w wydrukowanych już publikacjach. Po pierwsze, od strony technicznej takie parametry, jak stężenie hemoglobiny (w pełnej krwi), hematokryt czy liczba erytrocytów na jednostkę objętości krwi nie budzą wątpliwości, nawet przy skromnym opisie metodyki wykonania pomiarów. Natomiast pomiar (estymacja) powierzchni indywidualnych erytrocytów wymagałby jednak szerszego opisu. Samo przytoczenie nazwy programu, który wykonuje obliczenie na pewno nie wystarczy. Czy program mierzy rzeczywistą powierzchnię numerycznie, czy oblicza ją zakładając przybliżenie do jakiejś figury geometrycznej, to jedno z pytań, które same się narzucają. Jaki jest błąd pomiarowy? Nie zacytowano przy opisie tego wątku żadnej literatury, która mogłaby te kwestie wyjaśnić. Nie podano także żadnych danych, na ile precyzyjne są oszacowania i czy są powtarzalne. Również selekcja komórek do pomiaru/obliczenia, określonych jako normalnie wyglądające (fine-looking) w odróżnieniu od innych (jakich?) budzi moje wątpliwości. Zmienna proporcja komórek nietypowych, a więc pominiętych, mogłaby się potencjalnie różnić między zabiegami doświadczalnymi, co przynajmniej częściowo mogłoby wyjaśniać słabą wrażliwość użytej w pracy powierzchni erytrocytów na zabiegi doświadczalne.

Nieco zaskakującym zabiegiem w analizach statystycznych pracy jest modelowanie czterech wybranych parametrów czerwonych krwinek osobno, tak jakby były one niezależne. Jest oczywiste, że wszystkie cztery są wzajemnie powiązane i skorelowane, a osobne modelowanie zupełnie nie kontroluje zakresu współzależności i zmienności w reakcji na zabiegi doświadczalne. Przynajmniej wyjściowy model w przypadku analizy każdego z eksperymentów powinien być wielowymiarowy. Można by dla przykładu wykorzystać główne składowe (zapewne dwie pierwsze główne składowe) jako ogólne indeksy czerwonych krwinek: pierwsza główna składowa byłaby przypuszczalnie związana najmocniej z hemoglobina, hematokrytem i zliczeniem erytrocytów, a druga z powierzchnią erytrocytów (mogę się tu mylić). W odniesieniu do takich indeksów wielowymiarowych byłaby pewność, że nie wyjaśniamy wielokrotnie tego samego! Następnym krokiem mogłoby być przeanalizowanie na tym tle szczegółowych modeli dotyczących poszczególnych parametrów, tak jak to zrobiono. Prawdę powiedziawszy, dziwię się, że recenzenci renomowanych czasopism nie zwrócili na to uwagi. Z drugiej strony, chociaż uważam to za poważny błąd, to wciąż sądzę, że rozprawa dostarczyła jednak nowej, wartościowej wiedzy o czynnikach wpływających na wybrane parametry czerwonych krwinek.

Modele liniowe mieszane, użyte do testowania hipotez dotyczących poszczególnych zmiennych czerwonych krwinek są właściwe i umiejętnie użyte. Opis tych modeli dobrze byłoby uzupełnić o informację o sposobie aproksymacji liczby stopni swobody – tej informacji zabrakło w rozdziale METODY.

Znalazłem w rozprawie sporo błędów językowych i edycyjnych, ale nie będę się nimi szczegółowo zajmował, gdyż wobec faktu, że większość materiału już została opublikowana, nie mają one istotnego znaczenia dla oceny całości.

WNIOSEK KOŃCOWY

Ja, niżej podpisany stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Agaty Bury spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy 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) i wnioskuje do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o **dopuszczenie mgr Agaty Bury** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

30 września 2024 r.
data sporządzenia recenzji


.....
podpis recenzenta