

Prof. dr hab. Jerzy Bańbura
Katedra Zoologii Doświadczalnej
i Biologii Ewolucyjnej
Uniwersytet Łódzki
ul. Banacha 12/16
90-237 Łódź

Łódź, 9 sierpnia 2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Elisavet Zagkle pt. „Avian energy use and its link to oxidative stress“

Rozprawa doktorska mgr Elisavet Zagkle została wykonana pod kierunkiem dr. hab. Ulfa Bauchingera we współpracy z promotorem pomocniczym dr Edytą T. Sadowską z Instytutu Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego. Rozprawa ma postać jednolitego manuskryptu-monografii w języku angielskim, liczącego 146 stron druku. Tekst zawiera całościowe streszczenia w języku angielskim i polskim, krótką sekcję opisującą strukturę dysertacji, wykaz użytych skrótów, a następnie trzy główne rozdziały stanowiące główną część pracy, uzupełnioną spisem cytowanej literatury oraz informacjami dodatkowymi. Struktura zasadniczej części rozprawy jest pewną modyfikacją struktury klasycznej monografii. Modyfikacja polega na dostosowaniu rozdziału II do dwóch niezależnych wątków empirycznych pracy, zrealizowanych na dwóch osobnych modelach doświadczalnych, z posłużeniem się odmiennymi metodami. Stąd, uwzględnienie dwóch niezależnych eksperymentów spowodowało, że doktorantka podzieliła rozdział II na podrozdziały dotyczące, odpowiednio, eksperymentu I, zrealizowanego na dziko-żyjącej populacji sikor bogatek *Parus major* i eksperymentu II, zrealizowanego na wolierowej populacji zeberek *Taeniopygia guttata*. Każdy z tych podrozdziałów składa się trzech stałych sekcji: (i) Streszczenie, (ii) Materiał i Metody oraz (iii) Wyniki. Cała dyskusja dotycząca zarówno obu eksperymentów, jak i zagadnień wspólnych została umieszczona w rozdziale III. W moim przekonaniu taka forma dysertacji jest jedną z form, jakie dopuszcza art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 z późn. zm.).

Ogólnym celem badań relacjonowanych w rozprawie doktorskiej Elisavet Zagkle było eksperymentalne testowanie hipotez dotyczących związku między alokacją energii a stresem oksydacyjnym u ptaków, będącym rezultatem zachodzenia procesów metabolicznych. Inwestowanie energii w różne rodzaje aktywności w cyklu życiowym organizmów podlega

wzajemnym sprzężeniom kompromisowych, zasadzających się mechanistycznie na bilansie kosztów i zysków, w tym kosztów wynikających ze stresu oksydacyjnego.

Praca objęła szczegółowe cele, którym poświęcono część eksperymentalną. W eksperymencie terenowym na sikorach bogatkach doktorantka badała związek między podstawowym tempem metabolizmu (BMR) a dziennym wydatkiem energetycznym (DEE) samic podczas wytężonej opieki rodzicielskiej. W eksperymencie nad zeberką badano ograniczenia wynikające ze zdolności samic do rozpraszania ciepła dla maksymalizacji wydatków energetycznych związanych z rozrodem. W obu systemach doświadczalnych badano koszty fizjologiczne w kategoriach stresu oksydacyjnego. Przy okazji Elisavet Zagkle zbadala wiele efektów biologicznych powiązanych z zasadniczymi celami.

Samice sikor bogatek obciążone eksperymentalnie powiększonymi wylęgami (liczbą piskląt) zwiększały codzienne wydatki energetyczne bardziej niż samice kontrolne, przy braku zmiany podstawowego tempa metabolizmu. Zwiększenie codziennych wydatków energetycznych u samic poddanych zabiegowi powiększenia liczby piskląt i samic kontrolnych wiązało się ze zmniejszeniem nie-enzymatycznej wydolności antyoksydacyjnej. Wyniki są zgodne z przewidywaniami hipotezy, że stres oksydacyjny stanowi koszt fizjologiczny wysiłku reprodukcyjnego.

Zeberki poddano podwójnej manipulacji eksperymentalnej, polegającej na ekspozycji na dwa reżimy termiczne otoczenia (zimno (14°C) i ciepło (25°C)) oraz na zmniejszeniu izolacyjności części opierzenia dookoła plamy łęgowej (zwiększenie zdolności do rozpraszania ciepła) części samic wobec samic kontrolnych, niemanipulowanych. W systemie tym naśladowano warunki wymuszające znaczny wysiłek na uzyskanie pokarmu. Samice o zwiększonej eksperymentalnie zdolności do rozpraszania ciepła w mniejszym stopniu zmniejszały wagę, a także wychowywały cięższe i większe strukturalnie potomstwo niż samice kontrolne. Zabiegi nie wywołały zmian w poziomie stresu oksydacyjnego podczas rozrodu, ale spowodowały, że wydolność antyoksydacyjna spadła pod koniec reprodukcji. W sumie ten eksperyment także potwierdził istnienie kosztów oksydacyjnych rozrodu i, z drugiej strony, dowodzi, że zdolność do rozpraszania ciepła stanowi czynnik limitujący w energetyce wysiłku rozrodczego.

Jakkolwiek metody terenowe i laboratoryjne użyte w pracy są dobrze znane, to rzadko badacze mają możliwość użyć ich wszystkich w pojedynczym projekcie dotyczącym ptaków. Wyposażenie bazowe projektu Elisavet Zagkle, stanowiące zasoby utrzymywane przez Instytut Nauk o Środowisku UJ, są tym podstawowym walorem, który umożliwił przeprowadzenie tych badań. Dla zrealizowania pracy wykorzystano także współpracę

międzynarodową (usługę?), dzięki której możliwe było oszacowanie dziennych wydatków energetycznych siskor bogatek metodą izotopową.

Nie mam wątpliwości, że merytoryczny cel pracy doktorskiej Elisavet Zagkle został osiągnięty. Doktorantka dowiodła, że potrafi zaplanować, zorganizować i przeprowadzić badania wymagające kwalifikacji terenowych, laboratoryjnych i analitycznych. W wyniku lektury dysertacji pozytywnie oceniam opisane osiągnięcie merytoryczne Elisavet Zagkle. Mam natomiast szereg uwag krytycznych, które przedstawiam w dalszej części opinii.

Wyniki analiz statystycznych przedstawionych w dysertacji są niekiedy słabo czytelne. Już opis metod analizy jest zbyt lakoniczny i nieprecyzyjny. Ze względu na osobny opis metodyczny dwóch eksperymentów będących podstawą dysertacji, podzielono także opis metod analizy danych. W efekcie w niektórych aspektach znajdujemy w obu częściach ten sam opis, a z kolei aspekty specyficzne dla tych dwóch części są omówione zbyt ogólnikowo, aby zapewnić czytelnikowi pełne zrozumienie wyników analiz prezentowanych w dwóch sekcjach poświęconych WYNIKOM. Poza ogólnymi określeniami stosowanych procedur, takich jak „general linear models”, „analysis of covariance”, „linear mixed models”, nie opisano dokładniej, jak i dlaczego je stosowano, ani nie przedstawiono włączonych do tych modeli efektów i ich interakcji.

W dwóch sekcjach poświęconych wynikom (2.1.3 i 2.2.3) analizy są głównie prezentowane przez rysunki (bardzo dobre i instruktywne) i przez statystyki przytaczane bezpośrednio w tekście. Tylko w części poświęconej eksperymentowi nad zeberkami dwa modele liniowe mieszane są przedstawione w formie tabelarycznej, umożliwiającej proste zorientowanie się, jakie efekty w nich uwzględniono (Table 5 i 8). Jednak nawet w tekście na str. 81, odwołującym się do modelu mieszanego opisanego w Tabeli 5, autorka przytoczyła kilka statystyk F, które nie wiadomo jak się mają do modelu pokazanego w tabeli (np. związek masy samicy z wiekiem piskląt w wierszu trzecim od dołu str. 81). Jak był ten efekt badany? W osobnym modelu czy jako jakaś synteza efektów pokazanych w tabeli?

Przy prezentacji odrębnych efektów w tekście należałoby zawsze podać, jaka analiza była wykonana i czy dany efekt był testowany osobno, czy w modelu zawierającym więcej efektów (i interakcji). Tylko w pojedynczych przypadkach analiza prezentowana w tekście WYNIKÓW została określona jednoznacznie (np. ANOVA w wierszu trzecim na str. 58 lub w wierszu drugim od góry na str.81). Niestety, takie wybiórcze jednoznaczne określenie stwarza jeszcze większe wątpliwości do wszystkich innych przypadków. Znacznie lepiej byłoby konsekwentnie używać tabelarycznych podsumowań poszczególnych analizowanych

modeli lub w obu sekcjach zatytułowanych WYNIKI przedstawić zestawienie wszystkich badanych modeli statystycznych i do nich odwoływać się w tekście.

W trakcie lektury obu sekcji wynikowych natknąłem się też na pewne niekonsekwencje w prezentacji, które są wprawdzie niespecjalnie ważne, ale sugerują, że przy zastosowanym sposobie przedstawiania rezultatów samej autorce trudno było zachować jednolitość. Statystyki χ^2 w sekcji 2.2.3. są prezentowane bez podania liczby stopni swobody (choć na pewno jest to jeden stopień). Na stronie 80, przy prezentacji modelu ANCOVA dla zmienności w masie jaj zeberek dwa efekty są pokazane za pomocą zarówno statystyki t, jak i F, zaś jeden tylko za pomocą statystyki F. Ponieważ jest oczywiste, że F jest kwadratem t, to prezentowanie obu statystyk nic nie wnosi. Czy autorka miała jednak coś specjalnego na myśli różnicując prezentację?

Muszę także dodać, że nie podzielam entuzjazmu Elisavet Zagkle dla tego, co przytaczając Muffa et al. (2022) i Dushoffa et al. (2019), określa ona jako język dowodów i jasności. To oczywiście kwestia gustu i przyzwyczajień, dlatego nie czynię z tego poważnego zarzutu, ale żadne zabiegi semantyczne nie zastąpią zrozumiale przeprowadzonej analizy, która też przecież może wychodzić z różnych podstaw, jak choćby frekwencyjstycznej (stosowanej w dysertacji) czy Bayesowskiej. To jakimi słowami wyniki opiszemy właściwie nie ma znaczenia, jeśli tylko czytelnik będzie rozumiał, co autor analizował i w jaki sposób.

Jakkolwiek dla mnie samego język angielski nie jest językiem ojczystym, to muszę podkreślić, że przyczyn części moich problemów ze zrozumieniem pewnych fragmentów dysertacji upatrywałbym właśnie w tym, że autorka jest w podobnej sytuacji, tylko ma mniejsze doświadczenie. Nie będę wymieniał wszystkich potknięć językowych, które zauważyłem, ale czuję się w obowiązku zwrócić uwagę na kilka dotyczących terminologii związanej z cyklem życiowym ptaków. Jako przykładu użyję tekstu sekcji poświęconej pisklątom sikory bogatki, str. 57-58. W pierwszym zdaniu zamiast „clutch mass” powinno być „brood mass”, gdyż „clutch” to zniesienie rozumiane jako zestaw jaj danej samicy, a „brood” to zestaw piskląt, które wykluły się z tego zniesienia. Nawiasem mówiąc, to jeśli w tym zdaniu chodzi o „brood mass” przed manipulacją liczbą piskląt, to wynik jest zrozumiały, a nawet oczywisty. Drugie zdanie tej sekcji odnosi się do tego, co określono jako „hatchling number”. ale, o ile dobrze rozumiem, chodzi raczej o „brood size at a moment after manipulation (perhaps just after manipulation?)”. Z kolei ostatnie zdanie omawianej sekcji dwukrotnie posługuje się określeniem „fledgling success”, podczas gdy powinno być „fledging success”, co odpowiada polskiemu „sukcesowi wylotu”, zaś „fledgling” to „podlot” czyli młodociany ptak opuszczający gniazdo. W analogicznej sekcji poświęconej pisklątom

zeberki, w stosunku do 35-dniowych ptaków młodocianych autorka używa określenia „nestlings” czyli „pisklęta”, co na pewno nie jest poprawne – powinno być „juveniles”. Pozostając jeszcze przez chwilę przy kwestiach językowych, chciałbym też zwrócić uwagę, że w przypadku prac naukowych dotyczących ptaków, zwyczajowo nazwę łacińską wymieniamy w tekście tylko jeden raz, a później posługujemy się już tylko nazwą w języku pracy. Ta konwencja nie była przestrzegana w dysertacji Elisavet Zagkle.

Niestety, sporo potknięć zawiera także spis cytowanej literatury. Co najmniej w ośmiu przypadkach nie podano nazwy czasopisma, w którym była wydana dana publikacja. W pierwszym takim przypadku, praca Cichonia i Lindena z roku 1990, po błędnie wydrukowanej nazwie naukowej sikory bogatki podane są tylko numery stron. W innych przypadkach czasami zdarza się identyfikator cyfrowy DOI. W przypadku Nadava Nura pomyłono imię z nazwiskiem i jego praca znajduje się w niewłaściwym miejscu spisu literatury i jest niewłaściwie cytowana w tekście jako Nadav (1984) zamiast Nur (1984).

Mimo, że przedstawiłem sporo uwag krytycznych, to jednak jestem przekonany, że całość dysertacji doktorskiej Elisavet Zagkle zrozumiałem zgodnie z intencją autorki. W przypadku sekcji poświęconych wynikom, rozszyfrowanie prezentowanych modeli zajęło mi więcej czasu niż bym tego oczekiwał, ale sądzę, że też mi się to udało. Na tym tle, lektura DYSKUSJI była już znacznie łatwiejsza. Ostatecznie całą pracę doktorską Elisavet Zagkle oceniam pozytywnie, chociaż trochę dodatkowego wysiłku edycyjnego mogłoby pewnie spowodować ocenę entuzjastyczną.

Podsumowując, wyrażam opinię, że Elisavet Zagkle wykazała się wiedzą teoretyczną z zakresu prowadzonych przez siebie badań. Dowiodła, że umie rozwiązać problem naukowy posługując się dobrze zaplanowanymi badaniami i wykonując doświadczenia terenowe i laboratoryjne. W rezultacie uzyskała wyniki, które są znaczące naukowo.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Elisavet Zagkle spełnia warunki określone w artykule 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 z późn. zm.). Przedstawiam wniosek do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne UJ o dopuszczenie Elisavet Zagkle do dalszych etapów postępowania o nadanie jej stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.



Prof. dr hab. Jerzy Bańbura