



dr hab. Michał S. Wojciechowski, prof. UMK
Zakład Zoologii Kręgowców
Uniwersytet Mikołaja Kopernika
ul. Lwowska 1
87-100 Toruń

Toruń, 2019-02-08

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Izabeli Kulaszewicz pt. Czynniki wpływające na kondycję oraz parametry immunofizjologiczne ptaka morskiego Arktyki Wysokiej, alczyka (*Alle alle*)

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska została przygotowana przez mgr Izabelę Kulaszewicz w Katedrze Ekologii i Zoologii Kręgowców Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem dr hab. Dariusza Jakubasa, prof. Uniwersytetu Gdańskiego. Trzon rozprawy stanowią trzy prace, które zostały opublikowane w języku angielskim w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Dwie z nich zostały opublikowane w jednym z najlepszych periodyków ornitologicznych – Journal of Avian Biology. Ponadto, w skład przedstawionej mi do oceny rozprawy wchodzi bardzo obszerne streszczenie – w języku polskim i angielskim, oświadczenia współautorskie Doktorantki oraz oświadczenia współautorskie pozostałych autorów prac. Ostatnią częścią rozprawy jest lista pozostałych publikacji Doktorantki, które powstały podczas studiów doktoranckich.

Zgodnie z oświadczeniami przedstawionymi w dokumentacji mgr Kulaszewicz była wiodącą autorką badań oraz prac, które powstały na ich podstawie. Podoba mi się, iż zarówno Doktorantka, jak i współautorzy przedstawili swój udział w powstaniu prac opisowo. W mojej ocenie jest to znacznie lepsze niż przypisywanie poszczególnym autorom procentowego wkładu w powstanie pracy. Tu chcę zwrócić uwagę na źródło finansowania opisywanych badań, którym były dwa granty wydziałowe dla młodych naukowców oraz grant uzyskany w konkursie Preludium 5 Narodowego Centrum Nauki. Wyraźnie wskazuje to, iż Doktorantka nie tylko wie jak prowadzić badania naukowe i jak publikować ich wyniki, ale co chyba równie ważne – wie jak z sukcesem aplikować o tzw. zewnętrzne finansowanie badań. Jest to niezmiernie ważny element pracy naukowej,

gdyż pokazuje, iż Doktorantka potrafi porządnie zaplanować badania i potrafi przekonać do swojego pomysłu recenzentów.

Tematyka wszystkich prac dotyczy biologii okresu lęgowego alczyka *Alle alle* w kolonii we fiordzie Hornsund na południowo-zachodnim Spitzbergenie. Dwie prace to analiza parametrów immunologicznych oraz statusu oksydacyjnego osobników rodzicielskich w odniesieniu do zmieniającego się w trakcie sezonu wysiłku reprodukcyjnego. Trzecia praca to opis zróżnicowania warunków termicznych nor gniazdowych alczyków oraz analiza wpływu tych warunków na rozwój piskląt. Ogólnie można podsumować tematykę tych prac jako analizę czynników mogących wpływać na dostosowanie tych małych drapieżników morskich. Tematyka tych prac wydaje się niezmiernie istotną z kilku powodów. Wciąż słabo poznanym jest związek pomiędzy wydatkami energetycznymi związanymi z reprodukcją a stresem fizjologicznym u wolnożyjących gatunków zwierząt. Wydaje się to bardzo istotnym w odniesieniu do środowisk potencjalnie narażonych na obserwowane zmiany warunków klimatycznych. Wyniki dotyczące zmienności warunków termicznych wskazują na rolę czynnika abiotycznego dla sukcesu reprodukcyjnego ptaków. Znow, biorąc pod uwagę zmieniające się warunki termiczne w Arktyce nie sposób zadać sobie pytania o to, jak owe zmiany wpłyną na warunki lęgowe dostępne dla ptaków. Wyniki pracy Doktorantki mogą stanowić dobry punkt wyjścia dla analiz tego problemu.

Poniżej przedstawię ocenę poszczególnych prac wchodzących w skład rozprawy.

1. Kulaszewicz I., Wojczulanis-Jakubas K., Jakubas D. (2017) Trade-offs between reproduction and self-maintenance (immune function and body mass) in a small seabird, the little auk. *Journal of Avian Biology* 48: 371–379, 2017

Celem tej pracy była ocena konsekwencji zwiększonych wydatków energetycznych podczas okresu lęgowego na utrzymanie somatyczne samic i samców alczyków. Podstawowym założeniem testowanym w tej pracy było istnienie kompromisu (ang. trade-off) pomiędzy alokacją zasobów w procesy związane z reprodukcją, a te związane z utrzymaniem somatycznym. Miarą ostatniego była kondycja układu odpornościowego oraz skorygowana o rozmiary liniowe masa ciała. Autorzy pracy przyjęli, że wraz ze wzrostem wydatków energetycznych związanych z reprodukcją powinna spadać immunokompetencja (rozumiana jako zdolność budowania odpowiedzi immunologicznej) ptaków rodzicielskich wraz ze spadkiem skorygowanej o wymiary liniowe masy ciała. Co więcej, samice obarczone większymi kosztami związanymi z reprodukcją (produkcja jaja) miałyby ponosić większe koszty w postaci obniżonej kondycji. W efekcie, zwiększone koszty utrzymania somatycznego w połączeniu z większym wysiłkiem reprodukcyjnym

samic miałyby tłumaczyć ich dezercję w końcowej fazie opieki nad lęgiem. Badania zostały przeprowadzone w kolonii alczyków na Spitzbergenie. Lektura pracy wskazuje na porządną strukturę doświadczeń oraz porządne przygotowanie badań. Przy pomocy stosunkowo prostych i adekwatnych metod (co podkreślam jako zaletę) Doktorantka zebrała materiał badawczy pozwalający jej na przetestowanie postawionej na wstępie badań hipotezy. Wyniki pracy wskazują, iż zarówno immunokompetencja jak i skorygowana o wymiary liniowe masa ciała alczyków spadały wraz z postępem sezonu lęgowego. Ta pozytywna zależność pomiędzy obiema zmiennymi wskazuje, zgodnie zresztą z teorią, że im większymi zasobami dysponuje osobnik, tym więcej może alokować w utrzymanie somatyczne wyrażone m.in. kondycją układu odpornościowego. Dane nie wsparły jednak hipotezy o większych kosztach ponoszonych przez samice ale wskazują, że wraz ze spadkiem kondycji oraz immunokompetencji spadał poziom stresu doświadczanego przez ptaki. Jego wskaźnikiem miałby być stosunek heterofili do limfocytów. Jak właściwie Autorzy zauważają, obniżony poziom wskaźników stresu mógłby być związany z redukcją masy ciała ptaków i zmniejszeniem wydatków energetycznych podczas lotu. Ale wydaje mi się, że obniżenie masy ciała może mieć jeszcze jeden skutek, mianowicie poprzez zmniejszenie obciążenia powierzchni (ang. wing loading) ptaki mogą zyskiwać dodatkowy margines masy, dzięki któremu mogą dostarczać wzrastającemu pisklęciu większą ilość pokarmu podczas jednego przelotu. Czyli poprzez zmniejszenie masy ciała podnosiłyby niejako swoją „ładowność”. Czy jest to możliwe?

Podsumowując tę część oceny, uważam, że praca ta dostarcza bardzo solidnych danych wspierających hipotezę o kompromisie, trade-off, w alokacji zasobów pomiędzy reprodukcją i utrzymanie somatyczne osobników rodzicielskich alczyka.

2. Kulaszewicz I., Wojczulanis-Jakubas K., Jakubas D. (2018) Breeding phased dependent oxidative balance in a small High Arctic seabird, the little auk. *Journal of Avian Biology*, 2018: e01702, doi: 10.1111/jav.01702

Kolejnym etapem badań Doktorantki nad biologią rozrodu alczyków było oszacowanie zmian parametrów status oksydacyjnego wraz z postępem sezonu reprodukcyjnego. Jak w poprzedniej pracy, materiał do badań został zebrany w kolonii lęgowej w Hornsundzie. Autorzy pracy testowali w niej hipotezę oryginalnie sformułowaną przez Alonso-Alvarez i wsp. (2004) oraz Wiersmę i wsp. (2004), iż wraz ze wzrostem wydatków związanych z reprodukcją wzrasta stres oksydacyjny, jakiego doświadczają osobniki rodzicielskie. W celu przetestowania tej hipotezy oraz wynikających z niej przewidywań Autorzy pobrali materiał od alczyków w trzech fazach reprodukcji – podczas wysiadywania jaj, we wczesnym i późnym okresie karmienia młodych. Oryginalna hipoteza przewiduje, iż

wzrastający z reprodukcją stres oksydacyjny jest efektem zmniejszonych jednocześnie wydatków na obronę antyoksydacyjną. Autorzy przewidywali, że stres oksydacyjny winien być najniższy w fazie inkubacji, zaś najwyższy w późnej fazie okresu karmienia młodych. Tu jednak pojawia się pewien problem w mojej interpretacji wyników przedstawionych w pracy. W tekście pracy Autorzy wskazują, że stres oksydacyjny był najniższy w fazie inkubacji, zaś wyższy podczas wczesnego i późnego karmienia. Podobnie piszą w dyskusji. Jednakże zarówno wykres 1, jak i wyniki analiz wskaźnika uszkodzeń oksydacyjnych (ROM) i obrony antyoksydacyjnej (OXY) wskazują, że powinno być inaczej. Jeśli stres oksydacyjny to stosunek ROM/OXY, to wg opisu wyników powinien on być najwyższy w fazie inkubacji, a spadać wraz z postępem reprodukcji. Zgodnie z opisem wartości ROM były najwyższe podczas inkubacji, a najniższe w okresie późnego karmienia młodych. Wskaźnik obrony antyoksydacyjnej był odwrotnością wskaźnika uszkodzeń. Co więcej, rycina 1 wskazuje, że stres oksydacyjny był najwyższy w fazie inkubacji i wynosił około 25 jednostek, zaś w okresie karmienia młodych spadał do około 18-19 jednostek. W dyskusji pojawia się jeszcze jedna wątpliwość. Zgodnie z opisem w pierwszym paragrafie zarówno stres oksydacyjny, jak i wskaźnik uszkodzeń miałyby być najniższe w fazie inkubacji. Jest to sprzeczne z opisem w wynikach. Również opis ten jest sprzeczny z wynikami przedstawionymi na rycinie 1, do której w wynikach odnoszą się autorzy. Pozwolę sobie w tym miejscu zacytować odpowiednie fragmenty. W wynikach czytamy:

„Also, the ROMs were affected significantly by the phases of breeding season with higher values during incubation compared to two phases of the chick-rearing (...)”

oraz:

“Similarly, we found that plasma anti-oxidant capacity (OXY) was affected significantly only by the phase of breeding season. In this case, however, lower values were revealed for the incubation than the two phases of the chick-rearing (...)”,

zaś w dyskusji:

“Contrary to these expectations, however, we found that regardless of sex overall OS level and blood oxidative damage (ROMs) was lower during the incubation than at the later stages of breeding in the parents. Consistently, the plasma anti-oxidant capacity (OXY) was higher during the incubation than at the later stages of breeding in both sexes.”

Dalsza dyskusja opiera się na wynikach zgodnych z tymi przedstawionymi na rycinie:

„Lower OS and lower ROMs with a simultaneous higher level of OXY during the chick rearing period compared to the incubation suggest a buffering the negative effects of high reproductive costs.”

Proszę Doktorantkę o wyjaśnienie tych wątpliwości.

Utrzymując jednak, iż rycina 1 przedstawia właściwy obraz wyników, autorzy stwierdzili że podczas okresu największego obciążenia obowiązkami rodzicielskimi, przeciwnie do przewidywań, stres oksydacyjny był najniższy. Wydaje mi się to logicznym, biorąc pod uwagę istnienie dyskutowanego w poprzedniej pracy kompromisu pomiędzy wydatkami na reprodukcję i utrzymanie somatyczne. Stres oksydacyjny winien objawiać się najsilniej wtedy, gdy wydatki na utrzymanie somatyczne będą największe. Wprawdzie Doktorantka sugeruje, na podstawie wyników wcześniejszych prac, że istotną rolę w utrzymaniu bilansu oksydacyjnego mogą pełnić zmiany hormonalne. Wydaje mi się jednak, że alternatywne wyjaśnienie, dość skromnie potraktowane w pracy jest również, jeśli nie bardziej prawdopodobne. Jeśli stres oksydacyjny potraktować jako obraz niedoinwestowania w obronę somatyczną, a ta jest zależna od dostępnych zasobów energetycznych, to sezonowo zmieniająca się dostępność pokarmu mogłaby istotnie wpłynąć na utrzymanie bilansu oksydacyjnego osobników rodzicielskich. W większości znanych mi przypadków zapotrzebowanie energetyczne związane z karmieniem młodych jest zsynchronizowane ze szczytem dostępności pokarmu w środowisku. Jeśli tak, oznaczałoby to jednocześnie zwiększenie dostępności zasobów również dla utrzymania somatycznego rodziców. To z kolei oznacza możliwość przeznaczenia większych zasobów na obronę antyoksydacyjną, na co wskazuje rycina 1. W efekcie dochodziłoby do obserwowanych wewnątrzsezonowych zmian w statusie oksydacyjnym alczyków. Wprawdzie Doktorantka wspomina, że nie badała zmian dostępności pokarmu, jednak czy nie ma w literaturze danych o dostępności potencjalnej bazy pokarmowej alczyków w dystansie żerowania tych ptaków?

3. Kulaszewicz I., Jakubas D. (2018) Influence of nest burrow microclimate on chick growth in a colonial High-Arctic seabird, the little auk, *Polar Research*, 37:1, 1547044, DOI: 10.1080/17518369.2018.1547044

W ostatniej z prac wchodzących w skład rozprawy Doktorantka dokonała analizy warunków termicznych w norach gniazdowych alczyków na terenie kolonii gniazdowej w Horsundzie. Biorąc pod uwagę, iż reprodukcja ptaków jest procesem kosztownym energetycznie, poznanie warunków, w których ptaki wysiadują jaja i wychowują młode

wyduje się być istotnym z poznawczego punktu widzenia. W końcu wybierając odpowiednie warunki ptaki mogą istotnie zmniejszyć koszty wyprodukowania pokolenia potomnego i tym samym zwiększyć swoje dostosowanie mniejszym kosztem. W pracy tej analizowano warunki termiczne 10 gniazd, które było położone na wysokości pomiędzy 35 a 80 m n.p.m. tym samym analizując zmienność warunków termicznych w zależności od lokalizacji gniazda w kolonii. Hipoteza, którą sformułowano w pracy, iż temperatura różni się pomiędzy poszczególnymi norami wydaje się być oczywistą z naukowego punktu widzenia. Biorąc pod uwagę znajomość kolonii oraz wiedzę Doktorantki nt. biologii rozrodu tych ptaków, można by spodziewać się hipotezy mechanistycznie wiążącej warunki mikroklimatyczne np. z parametrami wzrostu i rozwoju piskląt. To z kolei pozwoliłoby na wnioskowanie, być może wyłącznie korelacyjne, na temat możliwej preferencji wyboru miejsc gniazdowania. Tym bardziej, że taką hipotezę sugerują przewidywania sformułowane w pracy. Do pomiaru warunków termicznych wykorzystano automatyczne rejestratory temperatury zlokalizowane wewnątrz nor oraz na zewnątrz nich. I tu pojawia się pierwsza uwaga. Dlaczego nie mierzono temperatury gruntu w pobliżu nory? Oczywistym wydaje się, że w warunkach ograniczonego przepływu powietrza w norze jednym z najważniejszych czynników wpływających na charakterystykę termiczną nory będzie temperatura gruntu. Kolejne pytanie dotyczy drewnianej osłony rejestratorów na zewnątrz nory. Jakiego była koloru i czy nie wpływała ona na zawyżenie wartości odczytywanej temperatury, choćby poprzez absorpcję ciepła z promieniowania słonecznego? Do kwestii pomiarów warunków abiotycznych jeszcze powrócę w dalszej części oceny.

Aby odnieść mierzone warunki termiczne do charakterystyki wzrostu ptaków wykorzystano parametr określony jako AGR. Jednak w pracy nie znalazłem wyjaśnienia tego skrótu. Jest w liście skrótów na stronie tytułowej, jednak zwyczaj i dobre praktyki nakazują wyjaśnić skrót, kiedy po raz pierwszy jest wykorzystywany w pracy.

Zgodnie z oczekiwaniem Autorzy stwierdzili, że warunki termiczne różniły się pomiędzy gniazdami. Im wyżej położone gniazdo, tym wyższa była jego temperatura. Choć Autorzy tego nie dyskutują, można przypuszczać, że obecność ptaków miała istotny wpływ na warunki termiczne w gnieździe - ptak, jako organizm endotermiczny tworzy mikroklimat gniazda. Tu uwaga metodyczna, prawdopodobnie wynikająca z mojej naiwności i nieznajomości kolonii lęgowych alczyków. Szkoda, że równoległe z pomiarami temperatury w norach zajętych nie rejestrowano temperatury nor niezajętych. Czy takie w ogóle są w kolonii? Wydaje się, że byłoby to znacznie bardziej informatywne niż porównywanie termiki nor zajętych w sezonie lęgowym z termiką nor w okresie polęgowym. Niezależnie od tego, temperatura w norach bez ptaków była niższa niż w

norach zajętych. Dane przedstawione w opisie wyników wskazują, że w norach panowały warunki bardziej stabilne niż na zewnątrz nich. Na wykresach obrazujących przebieg zmian temperatury w ciągu doby przedstawiono również linię odniesienia przy wartości 4,5°C, która to jest wartością dolnej temperatury krytycznej tego gatunku, nie zaś strefy termoneutralnej, jak opisano to w podpisie do rycin 2 i 5.

Autorzy stwierdzili, że wzrost ptaków w pierwszej i drugiej fazie wzrostu był szybszy w norach o wyższej temperaturze. Wskazuje to jasno na korzyści, jakie mogą czerpać alczyki z wyboru odpowiednich miejsc gniazdowania. Szkoda tylko, że nie zostało to przedstawione na rycinie 6, gdzie została przedstawiona zależność między tempem wzrostu piskląt a warunkami w norze. Przy tej okazji pozwolę sobie na uwagę techniczną dotyczącą prezentacji danych na wykresie. Zasada mówi, że wykres powinien być zrozumiały nawet, gdy zostanie wyjęty z publikacji. Niestety, opisy osi odciętych w postaci skrótu AGR i brak wyjaśnienia tego skrótu w podpisie do ryciny czyni ją kompletnie niezrozumiałą dla czytelnika. Co więcej, rycina 6 jest błędna z metodycznego punktu widzenia. Zmienna niezależna powinna być przedstawiona na osi odciętych, a nie rzędnych. Takie przedstawienie sugeruje jakoby tempo wzrostu piskląt wpływało na temperaturę wewnątrz nory. Jeśli dla takiej zależności wyliczono linie regresji, to wnioski płynące z tych wyliczeń mogą też być błędne. Niestety, nie jestem w stanie tego zweryfikować.

Wspomniałem wcześniej, że odniosę się do metod pomiaru warunków mikroklimatycznych. W dyskusji Autorzy piszą, że temperatura gniazd spadała wraz ze spadającą ilością docierającej energii słonecznej. Jednak nigdzie w pracy nie znalazłem informacji o pomiarze natężenia strumienia promieniowania cieplnego docierającego ze słońca. Wspominam o tym świadomie, gdyż w mojej opinii jest to bardzo ważny parametr, który warto zmierzyć analizując tego typu dane.

Tu chcę odnieść się do jeszcze jednego stwierdzenia pojawiającego się w pracy. Pod koniec przedostatniego paragrafu dyskusji Autorzy sugerują, jakoby warunki termiczne zbliżone do wartości dolnej temperatury krytycznej były dla ptaków niekorzystne (ang. harsh). Nie mogę się z tym stwierdzeniem zgodzić. Przy dolnej temperaturze krytycznej ptak cały czas znajduje się w strefie komfortu termicznego, jednocześnie będąc poniżej temperatury otoczenia, w której musiałby angażować dodatkowe mechanizmy utraty ciepła w celu utrzymania stałej temperatury ciała. Biorąc pod uwagę, iż górna temperatura krytyczna alczyków to zaledwie ~20°C, należy się raczej zastanowić, czy ptaki te nie chowają się w norach aby zabezpieczyć się przed przegrzaniem i np. przed nadmierną utratą wody przez parowanie. Już przy wartościach 15°C ptaki te mogą wymagać zwiększonej utraty ciepła (np. przez parowanie wody) aby zapobiec przegrzaniu.

Analizując rycinę 1 w pracy Gabrielsena i wsp. (1991, Auk 108, 71-78) wyraźnie widać, iż przy temperaturze otoczenia 20°C drastycznie wzrasta produkcja ciepła wskazując na intensywne rozpraszanie energii przez alczyki. Patrząc na wykresy zmian temperatury powietrza na zewnątrz nory mogą spekulować, iż w pełnym słońcu, przy temperaturze powietrza 7-10°C (ryc. 5A), temperatura odczuwalna tych ptaków mogłaby zbliżyć się do 20°C (konsultowałem tą możliwość z klimatologiem, który pracował na Spitzbergenie), co stanowiłoby potężny stres dla tych ptaków. Wydaje mi się, że oszacowanie lub zmierzenie temperatury odczuwalnej tych ptaków na zewnątrz nor mogłoby wnieść informacje na temat nieznanego pewnie dotąd problemu – ryzyka przegrzania w warunkach Wysokiej Arktyki.

Liczę, że powyższe krytyczne uwagi, które w większości wynikają głównie z bliskości tematu moim zainteresowaniom badawczym, zostaną odczytane jako konstruktywny komentarz to tej pracy. Szczerze zachęcam Doktorantkę lub jej następców do kontynuowania tych badań. W mojej opinii mogą one wnieść dużo nowych informacji do poznania wpływu zmiennych i zmieniających się warunków termicznych na biologię ptaków lęgnących się w rejonach arktycznych.

Podsumowując uważam, iż przedstawiona mi do oceny rozprawa spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w artykule 13 ustęp 1 "Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki". Stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego określonego w jej tytule, wskazuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki w dyscyplinie biologii oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Niniejszym wnioskuję do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr Izabeli Kulaszewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


dr hab. Michał S. Wojciechowski