

dr hab. Michał S. Wojciechowski
Zakład Fizjologii Zwierząt
Uniwersytet Mikołaja Kopernika
ul. Lwowska 1
87-100 Toruń

Toruń, 2014-08-28

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Doroty Kidawy pt. "Odpowiedź ekologiczna i behawioralna alczyka *Alle alle* na zmienne warunki troficzne i środowiskowe w Arktyce"

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska została przygotowana przez mgr Dorotę Kidawę w Katedrze Ekologii i Zoologii Kręgowców Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem profesora Lecha Stempniewicza. Jej zasadniczy trzon stanowią trzy prace eksperymentalne, które zostały opublikowane lub przyjęte do druku (ostatnia z prac, zaakceptowana 12 czerwca 2014) w międzynarodowych czasopismach naukowych, umieszczonych na liście Journal Citations Reports. Rozprawa opatrzona jest obszernym, pięciostronicowym streszczeniem w językach angielskim i polskim, zaś ostatnią jej część stanowią oświadczenia współautorów prac. Zadaniem moim, jako recenzenta, jest ocena, czy praca spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim przez artykuł 13 ustęp 1 "Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki". Jednak jest nim również przedstawienie uwag, które, mam nadzieję konstruktywnie, wpłyną na dalszą pracę naukową doktorantki.

Omawiając rozprawę rozpocznę niejako od końca, czyli od omówienia wkładu Doktorantki w powstanie prac. Wszystkie pozycje wchodzące w skład rozprawy mają wielu autorów, od pięciu do siedmiu. Zgodnie z deklaracjami, udział mgr Kidawy w powstanie każdej z nich jest znaczący na każdym etapie powstawania pracy. Tym samym spełnia ona jeden z warunków stawianych kandydatom na stopień doktora, czyli umiejętność samodzielnej pracy naukowej. W dzisiejszych czasach trudno oczekiwać od biologa pracy w oderwaniu od zespołu badawczego, a umiejętność pracy w zespole jest wręcz jednym z warunków koniecznych na dalszych etapach kariery naukowej. Mgr Kidawa we wszystkich pracach była autorem pierwszym lub korespondencyjnym, co niewątpliwie wskazuje na jej wiodącą rolę w powstanie wszystkich prac oraz leżących u ich podstaw badań. Szkoda jednak, iż brak w przedstawionych oświadczeniach deklaracji udziału procentowego Autorki w powstanie każdej z prac. Uwaga ta jest jednak marginalną i nie wpływa na moją ocenę rozprawy.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa dotyczy wpływu zmiennych warunków środowiskowych i w efekcie warunków troficznych na fizjologię i ekologię najliczniejszego w Arktyce gatunku ptaka morskiego – alczyka, *Alle alle*. Nie ulega wątpliwości, iż prace wchodzące w skład rozprawy stanowią istotny wkład Doktorantki w poznanie niezwykle istotnego i aktualnego problemu biologicznych skutków globalnych zmian klimatu. Wykorzystując alczyka jako gatunek modelowy Doktorantka podjęła się trudu odpowiedzi na

pytanie, jakie są mechanizmy i skutki odpowiedzi ptaków na zmienione warunki środowiskowe. Na podstawie przedstawionych mi do oceny prac uważam, iż bardzo dobrze wywiązała się z tego zadania. Poniżej omówię w skrócie poszczególne prace oraz przedstawię swoje uwagi krytyczne, które nasunęły mi się podczas ich lektury.

Doktorantka w bardzo obszernym streszczeniu rozprawy podsumowała treść trzech artykułów stanowiących zasadniczą część pracy. Stanowi ono ponadto wprowadzenie do ich tematyki naświetlając ogólny problem skutków zmian klimatycznych na funkcjonowanie ekosystemu Arktyki. Z informacji przedstawionych w streszczeniu oraz we wstępach do poszczególnych prac jasno wynika, iż alczyk jest doskonałym gatunkiem modelowym dla badania biologicznych skutków zmian klimatycznych następujących w środowisku Arktyki. Zarówno ptaki dorosłe, jak i młode charakteryzują się wysokim zapotrzebowaniem energetycznym, które pokrywają żerując m.in. na widłonogach związanych z zimnymi wodami Arktyki, wyraźnie preferując te z gatunku *Calanus glacialis*. Jak wynika z informacji zawartej w pracach, jakiegokolwiek zmiany stosunków hydrogeograficznych powodują zmiany w dostępności ich preferowanego pokarmu, a przez to w znaczny sposób podnoszą energetyczne koszty przeżycia dorosłych alczyków oraz koszty związane z wychowem młodych. W efekcie dochodzi do znacznego zwiększenia kosztów fizjologicznych i ekologicznych związanych z reprodukcją. Naturalnym jest więc pytanie, jak alczyki radzą sobie ze zmianami następującymi w środowisku? Na owo pytanie starała się odpowiedzieć Doktorantka w przedstawionych pracach.

Podczas lektury streszczenia nasunęła mi się jedna uwaga. Autorka pisze, że poziom kortykosteronu uznawany jest za wiarygodny wskaźnik obniżonej kondycji bądź złego stanu zdrowia. Nie jest to zbyt precyzyjne sformułowanie i najprawdopodobniej wynika ono ze skrótu myślowego. Podwyższony poziom kortykosteronu jest raczej wskaźnikiem zaburzenia homeostazy organizmu lub obciążenia allostatycznego, co nie od razu musi się przekładać na obniżoną kondycję lub stan zdrowia ptaków. Dopiero przeciążenie allostatyczne, czyli obciążenie powodujące znaczne zaburzenie homeostazy (lub allostazy) będzie ostatecznie prowadzić do obniżenia kondycji.

Pierwsza z prac wchodzących w skład rozprawy przedstawia wyniki badań poziomu stresu u wolnożyjących alczyków. W tym celu Doktorantka zastosowała metodę powszechnie stosowaną w oszacowywaniu stresu u wolnożyjących zwierząt, i która była z sukcesem stosowana w badaniach licznych gatunków gadów, ptaków i ssaków. Po raz pierwszy została jednak zastosowana w badaniach alczyków. Przewaga tej metody nad standardowym oznaczaniem glukokortykosteroidów we krwi jest znaczna; choćby ze względu na brak konieczności odłowu zwierząt i przez to ze względu na eliminację dodatkowego czynnika stresowego jakim jest odłów zwierzęcia. Pierwsza część tej pracy to walidacja metody z wykorzystaniem testu stymulacji hormonem adrenokortykotropowym. Druga część to wykorzystanie zwalidowanej metody do określenia zmiany poziomu metabolitów kortykosteroidów u piskląt i dorosłych alczyków. Celem drugiej, eksperymentalnej części pracy była weryfikacja hipotezy, iż ptaki eksponowane na gorsze warunki pogodowe są narażone na większy stres i w efekcie wykazują wyższy poziom metabolitów kortykosteronu w odchodach. Doktorantka przewidywała między innymi, iż będzie obserwować różną reakcję ptaków dorosłych i piskląt na dane warunki pogodowe, ponieważ pisklęta, ze względu

na nedorozwiniętą izolację w postaci piór są bardziej narażone na niekorzystne warunki niż osobniki dorosłe. Przeprowadzone analizy wyraźnie wykazały, że najbardziej wrażliwymi na stres niekorzystnych warunków środowiskowych były pisklęta. W ich odchodach poziom metabolitów kortykosteronu wzrastał w odpowiedzi na wzrost opadów. Co ciekawe, temperatura otoczenia nie wpływała na stężenie metabolitów kortykosteronu w odchodach piskląt. Zastanawia mnie, dlaczego Autorka nie analizowała możliwego wpływu interakcji obu tych czynników, temperatury i opadów, na stężenie metabolitów kortykosteronu? Co jednak ciekawe, badacze nie stwierdzili wpływu warunków abiotycznych na poziom stresu u ptaków dorosłych. Wskazuje to, iż dorosłe ptaki są niejako niewrażliwe na zmienne warunki pogodowe. Stresem wydają się być zmienne warunki żerowiskowe – przez autorów nazwane efektem kolonii. Porównywane ptaki z dwóch, oddalonych od siebie kolonii alczyków, z Horsundu i Magdalenefjorden, różniły się. Te, których żerowiska zlokalizowane są bliżej kolonii (Horsund), wykazywały mniejsze stężenie metabolitów kortykosteronu w odchodach. Co ciekawe, różnice między koloniami zanikają, jeśli analizować stężenie metabolitów kortykosteronu w odchodach piskląt.

Powyższa praca prezentuje bardzo interesujące wyniki badań i stawia Doktorantkę w awangardzie współcześnie bardzo modnej tzw. "fizjologii konserwatorskiej", nie dość poprzez wykorzystanie nieinwazyjnej metody oszacowywania poziomu stresu w populacjach wolnożyjących kręgowców, ale również dzięki wybraniu jako obiektu badań doskonałego modelu dla badania odpowiedzi na zmiany warunków środowiskowych, jakim jest alczyk. Mimo to mam kilka uwag krytycznych do przedstawionej pracy i liczę, iż doktorantka ustosunkuje się do nich. Pierwszą jest sposób prezentacji danych. Na niemal wszystkich wykresach przedstawionych w pracy (czterech z sześciu) dane zaprezentowano w formie zlogarytmowanej. Zastanawiam się dlaczego przedstawiono zlogarytmowane dane zamiast przedstawić wykresy na skalach logarytmicznych (ryc. 3, 4 i 5) lub na skali półlogarytmicznej (ryc. 6), jednocześnie podając rzeczywiste wartości stężenia metabolitów kortykosteronu, opadów, masy ciała oraz wieku piskląt. Nie dość, że byłoby to poprawne metodycznie, ale również znacznie ułatwiłoby czytanie wykresów. Dobra praktyka dotycząca raportowania danych wskazuje, aby mimo przeprowadzania analiz na danych transformowanych, podawać w pracy wartości na powrót transformowane do skali wyjściowej. Poważniejsza uwaga dotyczy braku informacji nt. stężenia metabolitów kortykosteronu w odchodach dorosłych ptaków. Podczas gdy wartości stężenia metabolitów kortykosteronu w odchodach piskląt można odczytać z wykresów (oczywiście należy pamiętać o ich przeliczeniu na wartości rzeczywiste), wartości dla ptaków dorosłych brak. Wydaje się, iż Autorka podążyła za popularnym w ekologii trendem przedstawiania wyłącznie wyników testów statystycznych, unikając jednocześnie podawania wartości średnich lub równań regresji. Mimo, iż analiza wykazała istotny wpływ kolonii na poziom metabolitów kortykosteronu w odchodach dorosłych ptaków, próżno szukać informacji, jaka to była różnica i czy była ona biologicznie istotna. Informacje te byłyby również istotne aby porównać poziom metabolitów w odchodach ptaków dorosłych i piskląt, szczególnie iż u piskląt poziom metabolitów wzrasta wraz z wiekiem. Danych tych nie można więc wykorzystać do potencjalnych analiz porównawczych. Dlatego zachęcam Autorkę do umieszczenia tych danych w jednym z repozytoriów internetowych.

Celem drugiej z prac wchodzących w skład rozprawy była ocena, jak zwiększenie kosztów lokomocji dorosłych ptaków, poprzez umieszczenie miniaturowych urządzeń rejestrujących, wpływa na pozyskiwanie pokarmu oraz możliwości wykarmienia piskląt alczyków. Rezultaty tej pracy wskazują, iż zwiększenie kosztów żerowania przez dorosłe ptaki wpływa negatywnie na inwestycje w opiekę nad potomstwem, a w konsekwencji może prowadzić do obniżenia kondycji piskląt. Nie ma to jednak związku z ich przeżywalnością. Choć wyniki tej pracy są bardzo interesujące zarówno z ekologicznego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia, do samej pracy mam szereg krytycznych uwag. Mam nadzieję, iż przydadzą się one Doktorantce w jej dalszej pracy. Zacznę od aspektu metodologicznego. Jak doskonale przedstawił to Weiner (2006) w swojej książce "Życie i ewolucja biosfery", biologia jest nauką, która do opisu obiektywnej rzeczywistości wykorzystuje hipotezy, które są zweryfikowane eksperymentalnie. W omawianej tu pracy, Autorka stawia hipotezę, iż małe urządzenia rejestrujące, w które wyposażone są dorosłe ptaki, nie wpływają na opiekę rodzicielską. W sensie statystycznym jest to klasyczna hipoteza zerowa "o braku wpływu". Jednak w sensie biologicznym niewiele ona wnosi, gdyż niejako z góry zakłada, iż zjawiska (tu: różnic lub wpływu) nie ma. Hipoteza ta stoi też w sprzeczności z wcześniejszymi, cytowanymi przez Doktorantkę, wynikami badań, które wyraźnie wskazują, iż taki efekt powinien być. Obarczenie alczyków rejestratorami powinno wpływać na intensywność opieki rodzicielskiej. Ostatecznym efektem sformułowania takiej hipotezy jest niezwykle trudność, lub wręcz niemożność sformułowania testowalnych przewidywań, które pozwoliłyby ilościowo przewidzieć wyniki nowych obserwacji i w rezultacie niejako poprowadzić logicznie proces weryfikacji hipotezy. I faktycznie, w pracy tej brak jasno sformułowanych przewidywań. Jednak, niewątpliwą wartością pracy jest to, iż pozwala na zrozumienie podstawowego mechanizmu oddziaływania stresu na ekologię alczyków.

Kolejne moje uwagi dotyczą metodyki. Po pierwsze dostrzegam poważny błąd w konstrukcji doświadczenia. Jak wiemy z pierwszej pracy oraz licznych prac w literaturze, ptaki w sposób bardzo wyraźny odpowiadają na stres. Takim stresem jest m.in. chwytanie i unieruchomienie, które drastycznie podnoszą poziom glukokortykosteroidów we krwi ptaków (np. Walker i wsp., 2005. *Int. Comp. Biol.* 45, 12-18). Autorka w omawianej tu pracy wyróżniła dwie grupy: ptaki, którym założono rejestratory, oraz ptaki niedotykane, kontrolne. Niestety, brak w doświadczeniu grupy kontrolnej dla stresu schwywania, unieruchomienia i manipulacji, które to osobniki zostałyby schwytane i poddane dokładnie tym samym manipulacjom, co ptaki z grupy "rejestratorowej", ale nie założono by im rejestratorów. Niestety, analizując przedstawione wyniki nie jestem w stanie stwierdzić, czy obserwowane różnice są przeciągającym się w czasie efektem stresu związanego z odłowem i manipulacjami, czy też rzeczywiście, są one skutkiem założonych rejestratorów. Kolejna uwaga dotyczy grupy eksperymentalnej. Badane ptaki zostały wyposażone w dwa typy rejestratorów: małe rejestratory temperatury (~1.5 g) oraz ponad trzykrotnie większe rejestratory GPS (masa ~5.5 g). Wszystkie ptaki, niezależnie od typu i wielkości urządzenia zostały przypisane do jednej grupy – ptaków eksperymentalnych. Nie uważam się za eksperta w dziedzinie aero- i hydrodynamiki, jednak pierwszym pytaniem, jaki mi się nasuwa, to czy różna wielkość rejestratorów nie wpływała w różny sposób na ptaki? Nie znalazłem jasnej odpowiedzi na to pytanie. Jedyne miejsce, w którym Doktorantka wspomina różne typy

rejestratorów jest początek sekcji "*Chick body mass*" w rozdziale wyniki. Pisze tam, iż nie było różnic w masie ciała piskląt pomiędzy grupami wyposażonymi w różne typy rejestratorów i odsyła do tabeli 1, w której zaprezentowane są liczebności grup. I nie wiem, czy zdanie to odnosi się do różnic w masie ciała piskląt przed, czy po zaopatrzeniu rodziców w rejestratory. Jeśli przed, to jaki był wpływ różnych typów rejestratorów zarówno na behavior rodziców oraz na masę piskląt? Doktorantka wspomina w dyskusji, że nie było różnic pomiędzy pisklętami rodziców wyposażonych w różne typy rejestratorów, ale pisze też, że nie była w stanie oszacować efektu różnych typów rejestratorów. Dlaczego? Liczę, że Doktorantka będzie mogła rozwiać moje wątpliwości. W tym miejscu wrócę do problemu grup eksperymentalnych. Załóżmy na chwilę, że większe rejestratory generują większe koszty uzyskania pokarmu przez rodziców. Jednak mimo to Doktorantka nie rejestruje wpływu różnego obciążenia rodziców na parametry piskląt. W tej sytuacji wydawać się może, że obserwowane różnice mogą być przedłużającym się efektem stresu, jakiego doświadczyli rodzice podczas odłowu i montowania rejestratorów. Wydaje mi się, że dodatkowa grupa kontrolna dla stresu odłowu i montowania rejestratorów dałaby odpowiedź na to pytanie. Byłbym wdzięczny gdyby Doktorantka ustosunkowała się do tej uwagi.

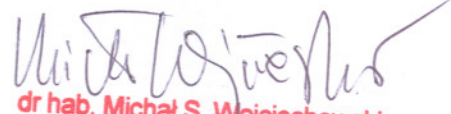
Niezależnie od powyższych uwag, praca ta dostarcza cennych danych na temat oddziaływania stresu na zachowanie dorosłych alczyków oraz na parametry życiowe piskląt podczas okresu karmienia. Bez wątpienia wykazano, że rejestratory, jak i inne urządzenia przyczepiane ptakom, uważane przez wielu autorów za nieinwazyjne, takimi nie są i mogą istotnie wpływać na funkcjonowanie zwierząt w środowisku naturalnym. Widać wyraźnie, co zresztą jest przedmiotem następnej pracy, iż dorosłe ptaki w wyniku stresu zwiększają inwestycje w utrzymanie własne poświęcając tym samym inwestycję w opiekę rodzicielską i utrzymanie młodych.

Trzecia z prac wchodzących w skład rozprawy została zaakceptowana do druku w *Marine Biology Research*. Doktorantka testowała w niej hipotezę, iż w niesprzyjających warunkach środowiska (wysoka temperatura wody i niekorzystna proporcja preferowanego pokarmu wśród dostępnych widłonogów) dorosłe ptaki poświęcają opiekę rodzicielską na rzecz zwiększenia inwestycji we własne utrzymanie. Z hipotezy tej wynikały dwa główne przewidywania: 1) w odpowiedzi na gorsze warunki dorosłe ptaki zmieniają swoją strategię żerowania i w efekcie zmniejszą częstotliwość karmienia młodych, oraz 2) wzrost i przeżywalność piskląt ptaków doświadczających gorszych warunków środowiska będą upośledzone, podczas gdy masa ciała ptaków dorosłych nie będzie się zmieniać w odpowiedzi na gorsze warunki środowiska. Przewidywania te Doktorantka weryfikowała w eksperymencie przeprowadzonym w warunkach naturalnych, analizując odpowiedź alczyków na zmienne warunki środowiska zarówno pomiędzy dwoma koloniami, jak i na przestrzeni dwóch lat. Praca ta jest raportem z bardzo porządnie przeprowadzonych badań, w których na pierwszym etapie oszacowano zmienność środowiska pod względem dostępności pokarmu oraz proporcji pokarmu preferowanego przez alczyki do pokarmu o mniejszej wartości. Następnym etapem było ustalenie preferencji alczyków wobec dostępnych w środowisku ofiar, które były dostarczane jako pokarm pisklętom. Na kolejnym etapie Autorka analizowała zmienność zachowania rodziców związanego z opieką rodzicielską, zaś ostatnim logicznym etapem badań była analiza masy ciała zarówno ptaków dorosłych, jak i piskląt,

która w połączeniu z innymi parametrami morfologicznymi jest dobrym wskaźnikiem zmian kondycji ptaków w zależności od warunków środowiskowych. W wyniku przeprowadzonych badań oraz analiz zebranych danych Doktorantka wykazała, iż w gorszych warunkach środowiska, tj. przy wyższej temperaturze wody związanej z napływem wód Atlantyckich i związanej z tym zmianie proporcji widłonogów na niekorzyść preferowanego *Calanus glacialis*, dorosłe alczyki zmniejszają inwestycje w opiekę rodzicielską jednocześnie zwiększając inwestycje w utrzymanie własne. Zmiany te następowały w obu koloniach rozrodczych alczyków w Horsundzie i Magdalenefjorden, i były tłumaczone przez zmiany opisanych warunków środowiskowych. Ostatecznym efektem zmiany inwestycji w opiekę rodzicielską było spowolnienie przybierania piskląt na masie oraz obniżenie ich przeżywalności. Badania te dają wyraźne wsparcie dla hipotezy, iż dorosłe ptaki w warunkach niedoboru pokarmu poświęcają swój doraźny sukces rozrodczy, prawdopodobnie na rzecz maksymalizacji ich życiowego sukcesu rozrodczego. Są one niemal klasycznym przykładem kompromisu ewolucyjnego (*trade-off*) pomiędzy przeżyciem a reprodukcją, wskazując tym samym, iż zmieniające się warunki środowiska mogą istotnie wpływać na zależności ekologiczne i ewolucyjne w ekosystemie Arktyki.

Jedyna uwaga krytyczna do omawianej pracy dotyczy sposobu prezentacji wyników, o czym wspominałem przy okazji pierwszej pracy. Jedną z podstawowych zasad tworzenia wszelkich rycin i wykresów mówi, iż muszą one "objasniać się same". Jeśli wyjąć wykres wraz z legendą z pracy, musi być jasnym, co jest na nim przedstawione. Bez kalkulatora, komputera lub suwaka logarytmicznego. Również, opisywanie osi wykresu "Coordinate 1" i "Coordinate 2" nie niesie żadnej informacji. Nie ma również informacji, co oznaczają owe koordynaty w legendzie. W tekście, dokąd odsyła Autorka, jasnych informacji też nie ma. Z trudem domyśliłem się, co wchodzi w skład owych koordynat, a i tak nie jestem do końca tego pewien. Uwagi te są jednak niewspółmierne do bardzo dobrej jakości badań i sposobu wnioskowania Doktorantki.

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 Doroty Kidawy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


dr hab. Michał S. Wojciechowski