



**WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

Łódź, dnia 25.01.2019 r.

Dr hab. Piotr Minias, prof. nadzw. UŁ
Uniwersytet Łódzki
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
email: piotr.minias@biol.uni.lodz.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Izabeli Kulaszewicz

**pt. „Czynniki wpływające na kondycję oraz parametry immunofizjologiczne ptaka
morskiego Arktyki Wysokiej, alczyka (*Alle alle*)”**

wykonanej w Katedrze Ekologii i Zoologii Kręgowców Uniwersytetu Gdańskiego

pod kierunkiem dr. hab. Dariusza Jakubasa, prof. nadzw. UG

Tematyka rozprawy

Tematyka rozprawy doktorskiej mgr Izabeli Kulaszewicz skupia się na analizie czynników wpływających na kondycję oraz parametry immunofizjologiczne kolonijnego ptaka związanego z morskim ekosystemem arktycznym, alczyka *Alle alle*. Badania prowadzone były w sezonie rozrodczym i obejmowały następujące zagadnienia:

1. Analiza kompromisów osobniczych związanych z reprodukcją, a w szczególności określenie zmian parametrów kondycyjnych i immunologicznych w kolejnych fazach rozrodczych.
2. Analiza zmian poziomu stresu oksydacyjnego w trakcie sezonu lęgowego oraz określenie jego związku z podstawowymi parametrami immunologicznymi.
3. Określenie wpływu mikroklimatu nor gniazdowych na tempo rozwoju piskląt.

Badania prowadzone były w latach 2013-2015 w kolonii lęgowej alczyka na Spitsbergenie. Wybrany obiekt badawczy (alczyk) doskonale nadaje się do testowania postawionych przez Doktorantkę hipotez. Z jednej strony, kolonijność alczyków umożliwia uzyskanie dużych ilości danych pochodzących z jednej lokalizacji, a więc od ptaków poddanych podobnym warunkom środowiskowym. Zwyczaj gniazdowania alczyków w norach umożliwia także relatywnie łatwy odłów ptaków dorosłych w okresie inkubacji, co również ma przełożenie na wielkość uzyskanych prób. Z drugiej strony, alczyk jest ptakiem o ciekawej biologii lęgowej, przejawiającej się między innymi jednorodną inwestycją samic w wielkość zniesienia (wszystkie samice składają tylko jedno jajo). Brak jakiegokolwiek zmienności w wielkości zniesienia może być wprawdzie pewnym utrudnieniem przy testowaniu hipotez związanych z natężeniem inwestycji rodzicielskich, ale jednocześnie umożliwia śledzenie sezonowych zmian parametrów immunologicznych, fizjologicznych i kondycyjnych u ptaków, które poddane są podobnej presji energetycznej związanej z koniecznością wykarmienia i wychowania tylko jednego pisklęcia.

Struktura rozprawy i jej ocena formalna

Zasadniczą część rozprawy doktorskiej tworzy cykl trzech powiązanych ze sobą tematycznie oryginalnych publikacji naukowych:

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(3), 371-379. (IF = 2.488, p-kty MNiSW: 45).
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*, 49(7), e01702. (IF = 2.488, p-kty MNiSW: 45).
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. (IF = 1.500, p-kty MNiSW: 25).

Kopie ww. publikacji stanowią trzon rozprawy doktorskiej, a w jej skład wchodzi także względnie obszernie (10 stron maszynopisu) streszczenia w języku polskim i angielskim. Streszczenia mają przejrzystą strukturę charakterystyczną dla prac naukowych. Rozpoczynają się one teoretycznym wprowadzeniem zawierającym jasno sformułowane ogólne hipotezy badawcze, po którym następuje opis metodyki, prezentacja wyników oraz ich zwięzła interpretacja, oraz spis literatury obejmujący

ponad 40 wyłącznie anglojęzycznych pozycji. Zarówno same prace jak i streszczenia, w tym streszczenie w języku angielskim, nie budzą zastrzeżeń pod względem stylistycznym i formalno-językowym. Do rozprawy dołączone są także oświadczenia współautorów opublikowanych prac charakteryzujące ich udział w powstawaniu publikacji, a także potwierdzające wiodący udział mgr Kulaszewicz w procesie tworzenia każdej z prac. Udział Doktorantki obejmował zebranie materiału w terenie, analizy laboratoryjne, analizy statystyczne oraz przygotowywanie manuskryptu, a w przypadku jednej z prac także zaplanowanie badań, był więc w każdym wypadku decydujący. W końcu, dołączony jest ogólny spis dorobku publikacyjnego Doktorantki obejmujący aż siedem oryginalnych prac naukowych (z wyłączeniem publikacji stanowiących rozprawę doktorską) opublikowanych w międzynarodowych czasopismach z listy *Journal Citation Index (JCR)*. W załączonej dokumentacji znajduje się także informacja, że badania prowadzące do powstania rozprawy doktorskiej finansowane były ze środków Narodowego Centrum nauki w ramach konkursu PRELUDIUM 5 oraz ze środków Uniwersytetu Gdańskiego w ramach Projektu dla Młodych Naukowców, co wskazuje na wysoką efektywność Doktorantki w pozyskiwaniu funduszy do prowadzenia badań.

Wszystkie trzy prace naukowe stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej opublikowane zostały w przeciągu ostatnich dwóch lat (2017-2018) w międzynarodowych czasopismach z listy *JCR* obejmujących szeroko pojętą tematykę biologii ptaków (*Journal of Avian Biology*) oraz badań ekosystemów Arktycznych i Antarktycznych (*Polar Research*). Należy tutaj nadmienić, że pierwsze z wymienionych czasopism, w którym ukazały się aż dwie prace mgr Kulaszewicz, jest uznawane za wiodące w swoim obszarze tematycznym (45 punktów MNiSW). Wszystkie manuskrypty składane w redakcjach czasopism ten rangi poddawane są wysokiej jakościowo recenzji naukowej, a także silnej selekcji względem nowatorstwa badań oraz możliwości zainteresowania prezentowanymi wynikami szerokich kręgów środowiska naukowego. W efekcie, miejsce publikacji prac Doktorantki pozwala przypuszczać, że zostaną one szybko zauważone i docenione przez międzynarodową społeczność naukową, choć na ten moment ocena realnego oddziaływania prac (liczby cytowań) nie jest możliwa ze względu na krótki czas jaki upłynął od daty ich publikacji. Sumaryczny *Impact Factor* wszystkich trzech prac wynosi niemal 6.5, natomiast sumaryczna liczba punktów MNiSW to 115.

Ocena merytoryczna

Merytoryczną wartość rozprawy doktorskiej mgr Izabeli Kulaszewicz oceniam bardzo wysoko. Wyniki zawarte w rozprawie są nowatorskie i z pewnością w sposób istotny uzupełniają istniejący stan wiedzy o biologii łęgowej alczyka, szczególnie w kontekście procesów immunologicznych i fizjologicznych

związanych z reprodukcją. Jednocześnie, wiele ze zjawisk opisywanych w rozprawie może mieć charakter ogólny, nie koniecznie związany z samym alczykiem. Stąd praca Doktorantki może potencjalnie wpłynąć na lepsze zrozumienie mechanizmów rozrodczych nie tylko ptaków alkowatych, ale także innych grup taksonomicznych ptaków. Kilka z prezentowanych przez Doktorantkę wyników zasługuje w mojej opinii na szczególną uwagę.

Ciekawym zjawiskiem jest wykazany przez mgr Kulaszewicz spadek wraz z postępem sezonu rozrodczego wydajności układu immunologicznego, mierzony aktywnością bakteriobójczą osocza krwi. Wynik taki był zgodny z oczekiwaniami Doktorantki, zakładając, że osłabienia wydajności układu odpornościowego można spodziewać się w efekcie wzrostu wysiłku reprodukcyjnego. Jako że, przy najmniej u gniazdowników, najbardziej energetycznie obciążającą fazą rozrodczą jest zwykle czas wychowywania piskląt, wiążący się z koniecznością dostarczenia potomstwu znacznych ilości pokarmu, zjawisko immunosupresji rodziców stwierdzano u ptaków najczęściej w tym właśnie okresie. Zgodnie z teoretycznymi założeniami, Doktorantka wykazała, że aktywność bakteriobójcza osocza krwi alczyków była najwyższa w okresie poprzedzającym składanie jaj, a następnie systematycznie spadała aby osiągnąć najniższe wartości w końcowym okresie karmienia piskląt. Odwrotną zależność Doktorantka wykazała dla kondycji ptaków, która była istotnie wyższa w początkowych fazach okresu rozrodczego w porównaniu z okresem karmienia piskląt. W efekcie, Doktorantka dostarczyła przekonujących (choć korelacyjnych) dowodów na obecność silnego kompromisu reprodukcyjnego u alczyka, w którym wzmożona inwestycja w wychowanie piskląt (na etapie ich karmienia) stanowi istotny koszt dla funkcji samozachowawczych ptaków.

Jeszcze ciekawszym, gdyż mającym znacznie mniejsze umocowanie w dotychczasowej literaturze naukowej, jest opisane przez Doktorantkę zjawisko spadku poziomu stresu oksydacyjnego alczyków w trakcie sezonu lęgowego. Wynik ten jest szczególnie zaskakujący w kontekście wcześniejszych doniesień Doktorantki o spadku kondycji i wydajności układu odpornościowego alczyków w okresie karmienia piskląt. Wyjaśnieniem tego zjawiska, jak wskazuje Doktorantka w swojej rozprawie, mogą być sezonowe zmiany dostępności pokarmu, bądź też zmiany hormonalne następujące w kolejnych fazach rozrodu.

Uwagi krytyczne

Merytoryczna krytyka prac naukowych poddanych wcześniej surowej ocenie międzynarodowego grona recenzentów jest trudnym zadaniem. Osobiście nie dostrzegam w opublikowanych pracach ani

w streszczeniu zasadniczych błędów merytorycznych. Niemniej chciałbym podnieść kilka kwestii, które w mojej opinii wymagają dodatkowego wyjaśnienia.

Po pierwsze, mam pewne wątpliwości co do użycia przez Doktorantkę terminu „immunokompetencja” w znaczeniu, które prezentowane jest w rozprawie. W ostatnich dekadach termin ten stał się niezwykle popularny w pracach z zakresu ekoimmunologii, jednak od pewnego czasu pojawia się w środowisku naukowym krytyka, że jest on nadużywany bądź stosowany w zbyt szerokim kontekście. W ścisłym znaczeniu, immunokompetencja oznacza zdolność organizmu do wzbudzenia prawidłowej odpowiedzi odpornościowej związanej z ekspozycją na dany antygen. W tym rozumieniu, siła aktywności bakteriobójczej osocza krwi może rzeczywiście świadczyć o immunokompetencji ptaków. Jednak w pracach Doktorantki proporcja liczby heterofili do limfocytów również traktowana jest jako jeden ze wskaźników immunokompetencji, choć trudno jest jednoznacznie stwierdzić, czy zwiększona proporcja któregośkolwiek rodzaju białych krwinek świadczy o bardziej lub mniej prawidłowej odpowiedzi odpornościowej organizmu. Stąd, w mojej opinii poprawniej byłoby określić proporcję liczby heterofili do limfocytów terminem o szerszym znaczeniu niż immunokompetencja (np. parametrem immunologicznym lub hematologicznym), ewentualnie samo pojęcie immunokompetencji należałoby zdefiniować w szerszym kontekście niż zwyczajowo przyjęto.

Moja druga wątpliwość także związana jest ze proporcją liczby heterofili do limfocytów. Jednym z najciekawszych dla mnie wyników rozprawy jest dodatnia korelacja między tym parametrem a aktywnością bakteriobójczą osocza krwi ptaków. Doktorantka zjawisko to tłumaczy równoległą aktywacją obu gałęzi (wrodzonej i nabytej) układu odpornościowego. Takie tłumaczenie jest dla mnie zaskakujące, gdyż zarówno aktywność bakteriobójcza osocza krwi jak i wysoka liczba heterofili we krwi związana jest ściśle ze wzmożoną aktywnością układu wrodzonego. W streszczeniu Doktorantka tłumaczy, że „aktywność bakteriobójcza osocza krwi ptaków obejmuje wiele składników wrodzonego układu odpornościowego, w tym (...) białka dopełniacza i lizozym”. Z kolei heterofile to podstawowe komórki związane z fagocytarną aktywnością układu wrodzonego. Stąd, podwyższona aktywność bakteriobójcza osocza krwi i podwyższona proporcja heterofili do limfocytów na początku sezonu rozrodczego alczyka zdaje się jasno świadczyć o wysokiej aktywności układu wrodzonego, który wraz z postępem sezonu jest stopniowo wygaszany, być może na korzyść wyższej aktywności układu nabytego.

W końcu, nie jest dla mnie jasnym sformułowanie części hipotez związanych ze zmianami poziomu stresu oksydacyjnego u alczyków. Doktorantka postawiła kilka szczegółowych hipotez zakładających pozytywną korelację między stresem oksydacyjnym a parametrami hematologicznymi, w tym liczbą heterofili, liczbą limfocytów, oraz proporcją liczby heterofili do limfocytów. Wydaje mi


się, że hipotezy te częściowo się wykluczają, gdyż wzrost stresu oksydacyjnego zarówno z liczbą heterofili, jak i limfocytów powinien w zasadzie oznaczać brak korelacji z proporcją obu tych rodzajów komórek (choć można sobie wyobrazić specyficzne przypadki kiedy tak się nie dzieje).

Z całą mocą jednak chciałbym podkreślić, że moje powyższe uwagi mają jedynie drugorzędne znaczenie i nie wpływają na bardzo pozytywną ocenę merytoryczną rozprawy mgr Kulaszewicz. Mam też pełne przekonanie, że Doktorantka niezwykle rzetelnie wypełniła swoje obowiązki związane z przygotowaniem rozprawy doktorskiej. Całokształt prezentowanej rozprawy wskazuje, że mgr Kulaszewicz opanowała szeroki wachlarz umiejętności z zakresu prowadzenia prac terenowych i laboratoryjnych, a także wykorzystania zaawansowanych metod analizy statystycznej i interpretacji uzyskanych wyników naukowych. Wskazuje to wysoki potencjał Doktorantki do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej na ewentualnych dalszych etapach kariery akademickiej.

Podsumowanie

Podsumowując, uważam, że rozprawa doktorska Pani mgr Izabeli Kulaszewicz spełnia wymogi stawiane przez Ustawę z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. U. Nr 65/03 poz. 595) i na tej podstawie wnoszę o **dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego**.

Biorąc pod uwagę wysoki poziom merytoryczny przeprowadzonych badań i wysoką rangą powstałych w ich wyniku publikacji naukowych, zwracam się do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego z wnioskiem o **wyróżnienie rozprawy stosowaną nagrodą**.

KIEROWNIK
Katedry Badania Różnorodności
Biologicznej, Dydaktyki i Bioedukacji

dr hab. Piotr Minias