

dr hab. Anetta Borkowska
Uniwersytet w Białymstoku
Wydział Biologiczno-Chemiczny
Instytut Biologii
ul. K. Ciołkowskiego 1J
15-245 Białystok

Białystok, 21.09.2015 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Mateusza Buczka pt. „Antler quality in red deer:
a test of Hamilton and Zuk hypothesis”**

Recenzja została wykonana w odpowiedzi na pismo dyrektor Instytutu Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego, dr hab. Marii Niklińskiej z dnia 24.07.2015 r. Otrzymany manuskrypt umożliwia ocenę spełnienia przez rozprawę doktorską warunków określonych w art. 13 ust.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

Ocena formalna rozprawy

Recenzowana rozprawa doktorska została wykonana pod opieką prof. dr hab. Jacka Radwana w Zespole Ekologii Molekularnej i Behawioralnej Instytutu Nauk o Środowisku Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Badania finansowane były przez Narodowe Centrum Nauki i Uniwersytet Jagielloński. Praca doktorska ma formę manuskryptu w języku angielskim, obejmuje 61 stron druku komputerowego. Tekst pracy poprzedzony streszczeniem w języku angielskim, został podzielony na pięć numerowanych rozdziałów obejmujących: wstęp, metody, wyniki, dyskusję i wnioski. Dodatkowo zamieszczono spis piśmiennictwa, suplement (cztery tabele), streszczenie w języku polskim i podziękowania. W rozdziałach: metody, wyniki i dyskusja wydzielono podrozdziały. Rozdział wyniki zawiera pięć tabel i cztery ryciny.

Praca napisana jest językiem naukowym, poprawnym. Układ edytorski tekstu, wykonanie tabel i rycin są bardzo staranne. Szczegółowy spis treści jest przejrzysty. Podobnie starannie przygotowany jest spis literatury, zawierający 107 pozycji, głównie w języku angielskim. Wszystkie cytowane w tekście pracy pozycje znalazły się w spisie literatury.

Ocena merytoryczna rozprawy

Koncepcja doboru płciowego została zaproponowana przez Karola Darwina jako wyjaśnienie ewolucji cech epigamicznych, takich jak np. jaskrawe ubarwienie ptaków czy

poroże u jeleniowatych. Powstanie tych cech jest konsekwencją dwóch procesów: konkurencji między samcami o dostęp do samic i wyboru przez samice pewnych cech fenotypowych samców. Nadal nie znamy odpowiedzi na pytanie jak w populacjach utrzymywana jest zmienność genetyczna, niezbędna do ewolucji wyboru partnera uwzględniającego jego jakość genetyczną. Podjęty przez Autora temat badawczy wpisuje się w nurt badań próbujących w sposób empiryczny przetestować jedną z bardziej znanych hipotez rozwiązania tego problemu. Hamilton i Zuk zaproponowali w 1982 r., że ciągła koewolucja pasożytów i ich gospodarzy może stanowić niewyczerpane źródło zmienności dotyczącej możliwości obrony gospodarzy przez pasożytami – cech kondycji samców będących przedmiotem wyboru samic.

Doktorant wybrał bardzo ciekawy model jelenia szlachetnego *Cervus elaphus*, u którego samce wykształcają corocznie zrzucane poroże, epigamiczne struktury kostne o charakterze oręża. Badania zostały zaplanowane bardzo starannie. Zależności między zmiennością genetyczną genu DRB głównego kompleksu zgodności tkankowej MHC II, wielkością poroża i zapasożyceniem osobników szukano zarówno w dwóch populacjach naturalnych jak i w populacji eksperymentalnej, w której możliwa była manipulacja zespołem pasożytów poprzez podawanie zwierzętom odpowiednich leków. Analizy morfometryczne poroża oraz składu gatunkowego pasożytów żyjących w przewodzie pokarmowym i płucach jeleni wykonano z zastosowaniem standardowych metod. Na uwagę zasługują bardzo dobrze przeprowadzone analizy genetyczne sekwencjonowania wielkoskalowego genu MHC II DRB, analizy bioinformatyczne uzyskanych danych i ich statystyczne opracowanie. Dokładnie zaplanowane były także wszystkie analizy korelacyjne, dzięki którym możliwe było przetestowanie prawdziwości założeń hipotezy Hamiltona i Zuk na wybranym modelu.

W założeniach swojej rozprawy (str. 10) Doktorant przedstawia wybrany gatunek jako doskonały wręcz model do testowania założeń hipotezy Hamiltona i Zuk, gdyż jak podaje, masa poroża u jeleniowatych jest cechą odziedziczną, silnie skorelowaną z sukcesem reprodukcyjnym samca (Kruuk *et al.* 2002). A ponieważ wykształcenie poroża wiąże się ze znacznym obciążeniem organizmu (Landate-Castillejos *et al.* 2007), to może być ono uważane za dobry wskaźnik kondycji samca. Dodatkowym plusem jest dobrze poznana fauna pasożytów jelenia szlachetnego i zmienność genów MHC. Jak się okazało, zastosowanie tego gatunku modelowego dało niejednoznaczne, choć nie mniej, bardzo ciekawe wyniki. Doktorant wykazał, że zależności między wielkością poroża, stopniem zapasożycenia oraz zmiennością genów MHC ani w populacjach naturalnych ani w populacji zamkniętej nie są zgodne z założeniami hipotezy Hamiltona i Zuk. Niektóre warianty MHC były powiązane z

opornością na pasożyty, jak np. wariant C9 czy C1, inne odwrotnie – zwiększały na nie podatność. Dodatkowo zauważono efekty plejotropowe i interakcje genotyp x środowisko. Z wielkością poroża korelował jedynie poziom zapasożyczenia nicieniem z rodzaju *Dictiocaulus* lecz była to zależność pozytywna. Co więcej, aplikowanie leków antypasożytniczych nie wpłynęło na masę ciała ani wielkość poroża jeleni poddanych doświadczeniu. Nieoczekiwany raczej wynik, Doktorant próbuje wyjaśnić w dyskusji pracy. Dyskusja wyników przedstawia dość dobry przegląd i porównanie z już opublikowanymi badaniami, świadcząc, iż Autor posiada wiedzę w tym zakresie. Zabrakło w niej jednak szerszego przedyskutowania dwóch problemów: po pierwsze, krytycznego spojrzenia na ograniczenia wybranego do badań modelu, po drugie, bliższego przyjrzenia się kwestii wyboru samca przez samicę u jelenia szlachetnego.

Jeśli chodzi o pierwszy problem, uważam, że Doktorant w sposób niewystarczający omówił wpływ tak a nie inaczej zaplanowanego doświadczenia i poboru prób z populacji naturalnych na uzyskane zależności. Od czego zależy wielkość poroża u jelenia szlachetnego, jak ono się rozwija, i który etap rozwoju osobniczego jest najważniejszy w kształtowaniu się przyszłego poroża? Pomimo cytacji prac dotyczących tego tematu (np. Mulvey & Aho 1993) jak i wielu innych dostępnych (np. Schmidt *et al.* 2001), Doktorant wnikliwie ich nie analizuje w kontekście wyników uzyskanych dla osobników starszych klas wiekowych. A przecież selekcyoner zwierzyny łownej potrafi wskazać przyszłościowego byka już w pierwszym czy w drugim porożu.

Drugi problem, który przewija się we Wstępie i Dyskusji rozprawy, to kwestia wyboru samca przez samicę po cechach o charakterze ornamentu. Czy rzeczywiście w poligamicznym systemie rozrodczym jelenia szlachetnego, w którym byk utrzymuje harem łań dzięki swojej tzw. dobrej kondycji, której wyznacznikiem z pewnością jest masa ciała i skorelowana z nią masa i wielkość poroża, łanie dokonują wyboru byka po cechach poroża? Gdyby tak było, nie byłoby w populacji słabych byków. Jaka jest w tym przypadku rola samic w kształtowaniu tej cechy (wielkości poroża) w kontekście doboru płciowego? Czy można, jeśli tak, to dlaczego, porównać model jelenia szlachetnego z innym gatunkami modelowymi, u których samica rzeczywiście dokonuje wyboru samca po cechach o charakterze ornamentu np. u cierników?

Uwagi edytorskie

Rozprawa, jak wspomniałam na wstępie, pod względem edytorskim została przygotowana przez mgr. Buczka bardzo starannie. Pozwolę jednak zamieścić kilka uwag:

- 1) W opisie eksperymentu nie podano zagęszczenia zwierząt trzymanyh w zamknięciu, wspomniano tylko, że było ono stałe. Ponieważ zagęszczenie jest jednym z czynników wpływających na rozwój poroża u jeleni, taka informacja byłaby pomocna w ocenie różnic między populacjami naturalnymi i populacją zamkniętą.
- 2) Autor nie podał żadnej informacji o zgodzie lokalnej komisji etycznej na przeprowadzenie doświadczenia. Jestem przekonana, że badania przeprowadzone były zgodnie z prawem obowiązującym w Polsce i Czechach, jednakże taka informacja powinna znaleźć się w rozdziale Metody.
- 3) Doktorant nadmienia na str. 23, iż wyniki genotypowania dostępne są w bazie Dryad. Niepodanie adresu dostępu do zdeponowanych danych powoduje, że jest to bezwartościowa informacja.
- 4) Cytację tabel zamieszczonych w Suplemencie pracy Autor rozpoczyna od tabeli S4, przechodząc następnie do tabeli S1. Wydaje się, że kolejność cytowania tabel powinna dotyczyć zarówno tych umieszczonych w głównym tekście pracy jak i w Suplemencie.
- 5) Omówienie tabeli S4 umieszczone na stronie 23 budzi moją wątpliwość. Najniższa wartość obserwowanych odczytów (ang. reads) jaką zauważyłam w tabeli to 59 (osobnik B029) vs. 41 wymaganych. Autor twierdzi, że w tym przypadku wymaganych odczytów było 63 i osobnik nie został wykluczony z dalszych analiz.
- 6) Podpis Ryciny 4, moim zdaniem, nie do końca wyjaśnia jej treść. O jakie miesiące okresu rozwoju poroża chodzi? Czy rycina przedstawia zbiorcze dane z dwóch lat prowadzenia eksperymentu?
- 7) Niefortunnym wydaje się użycie przez Autora na str. 36 wyrażenia „nieznany pasożyt”, którym mogłyby być zarażone jelenie, i który wpływałby na rozwój poroża osobników posiadających wariant C2 MHC. Brak szerszego wyjaśnienia sugeruje, że w pracy zastosowana została nieadekwatna metoda oceny fauny pasożytów.

Wniosek końcowy

Podsumowując, wyniki badań mgr. Mateusza Buczka nie dały poparcia hipotezy Hamiltona i Zuk, mówiącej, że antagonistyczna koewolucja pasożytów i gospodarzy może stanowić niewyczerpane źródło zmienności w kondycji gospodarza. Brak umocnienia hipotezy w żadnej mierze nie umniejsza wartości pracy. Doktorant wykazał, że kompromis pomiędzy inwestycją byków jelenia w odpowiedź immunologiczną na pasożyty i w wytworzenie cech epigamicznych może być przyczyną, że wielkość poroża jest bardzo

słabym wyznacznikiem genów związanych z opornością na pasożyty. Skomplikowany związek pomiędzy wariantami genu DRB II i opornością na różne gatunki pasożytów dodatkowo osłabia potencjalne korzyści płynące z wyboru partnera, który przekazałby potomstwu specyficzne warianty MHC.

Uważam, że przedłożona przez mgr. Mateusza Buczka praca pt. „Antler quality in red deer: a test of Hamilton and Zuk hypothesis” spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez art. 13 ust.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Dysertacja zawiera oryginalne rozstrzygnięcie jednego z ważniejszych problemów naukowych biologii ewolucyjnej, wskazuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktoranta w dyscyplinie biologii oraz potwierdza umiejętność poprawnego zaplanowania i przeprowadzenia badań naukowych. Wnioskuje do Rady Instytutu Nauk o Środowisku Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie pana mgr. Mateusza Buczka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

A. Borhowski