

Białowieża, 28 wrzesień 2015 r.

Prof. dr hab. Jan M. Wójcik
Instytut Biologii Ssaków PAN
w Białowieży
e-mail: jwojcik@ibs.bialowieza.pl

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

Rozprawa doktorska Pana mgr. Mateusza Buczka, przygotowana pod opieką Pana prof. dr. hab. Jacka Radwana, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego z zakresu biologii ewolucyjnej. Rozprawa została napisana w języku angielskim i ma formę maszynopisu o łącznej objętości 61 numerowanych stron. Praca podzielona jest na klasyczne rozdziały, zawierające 5 tabel i 4 ryciny. Ponadto zawiera 9 stron materiałów uzupełniających oraz streszczenie w języku polskim.

Doktorant podjął próbę przetestowania przewidywań hipotezy Hamiltona i Zuk w populacjach jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*). Problem ten jest niezwykle interesujący, ale wyjątkowo trudny do zbadania. Do tej pory nie uzyskano jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, jak w populacjach utrzymywana jest zmienność genetyczna, niezbędna do ewolucji wyboru partnera z uwzględnieniem jego jakości genetycznej. Jedną z odpowiedzi może być hipoteza Hamiltona i Zuk, która zakłada, że ciągłe zmiany w składzie genetycznym populacji pasożytów mogą utrzymywać zmienność dotyczącą odporności gospodarzy. Osobniki wykształcające większe ornamenty płciowe powinny być bardziej odporne na pasożyty i w lepszej kondycji. Dlatego wybór partnera w oparciu o ekspresję drugorzędowych cech płciowych powinien przynosić korzyści genetyczne. Zatem, ko-ewolucja między pasożytami a żywicielami byłaby główną siłą odpowiedzialną za ewolucję ornamentów płciowych, zgodnie z hipotezą Hamiltona i Zuk.

Wybór jelenia szlachetnego, jako obiektu badań do testowania przewidywań hipotezy Hamiltona i Zuk był trafny, gdyż samce (byki) posiadają wyraźnie wykształcone ornamenty płciowe (poroże) odnawiane każdego roku. Większe poroże powinno wskazywać na wyższą odporność na pasożyty, czyli posiadanie tak zwanych „dobrych genów”. Dlatego samice powinny wybierać samce o większych porożach, zapewniając tym samym potomstwu lepsze perspektywy przeżycia i rozrodu. Doktorant przeprowadził badania na samcach jeleni pozyskanych z dwóch dzikich populacji (w Bieszczadach i w okolicach Piły) oraz wykonał kontrolowany eksperyment w stadzie hodowlanym. W wolno żyjących populacjach testował hipotezę Hamiltona i Zuk za pomocą podejścia korelacyjnego, czyli analizował związki między genami głównego kompleksu zgodności tkankowej MHC, pasożytami płucnymi i jelitowo-żołądkowymi oraz wielkością poroża.

Moim zdaniem najbardziej wartościową częścią rozprawy jest analiza zmienności w genie MHC II DRB u samców jeleni z dzikich populacji. Doktorant wykonał skomplikowane analizy laboratoryjne i bioinformatyczne z wykorzystaniem nowoczesnych metod badawczych (sekwencjonowanie nowej generacji w technologii Illumina). Zidentyfikował 46 domniemanych alleli w prawdopodobnie czterech loci, oraz zgrupował je w osiem funkcjonalnych wariantów MHC. Doktorant wykrył kilka istotnych statystycznie zależności między funkcjonalnymi wariantami MHC i różnymi grupami pasożytów płucnych i jelitowo-żołądkowych stosując uogólnione modele liniowe. Niektóre warianty MHC dawały odporność, a inne zwiększały podatność na konkretnego pasożyta. Ponadto występowały efekty plejotropowe, to znaczy, że niektóre warianty MHC zwiększały odporność na jednego lub kilka różnych pasożytów, a jednocześnie zwiększały podatność na inne pasożyty. Doktorant stwierdził również, że związki pomiędzy MHC a pasożytami różniły się istotnie między badanymi populacjami, czyli wykazywały interakcję genotyp x środowisko.

Pomimo, że Doktorant wykrył różne zależności między MHC a pasożytami u byków w wolno żyjących populacjach jeleni, to stosując ogólne modele liniowe, nie wykazał istotnych korelacji między poziomem infekcji poszczególnych pasożytów a wielkością poroża. Tylko w przypadku jednego z badanych pasożytów płucnych (*Dictiocaulus* sp.) stwierdził istotną korelację, ale związek ten był pozytywny, czyli wynik był przeciwny do przewidywań hipotezy Hamiltona i Zuk.

Chociaż te badania były dobrze zaplanowane i dostarczyły wartościowych wyników, to sądzę, że Doktorant nie był w stanie zweryfikować w pełni przewidywań hipotezy Hamiltona i Żuk w wolno żyjących populacjach jelenia szlachetnego. Doktorant sam stwierdził, że wyniki tych badań mogą być trudne do zinterpretowania, gdyż naturalne środowisko jest źródłem wielu niedających się kontrolować czynników, które mogą maskować analizowane związki między pasożytami a porożem.

Dlatego Doktorant postanowił przetestować hipotezę Hamiltona i Żuk również w warunkach kontrolowanych u samców jeleni z eksperymentalnej hodowli. W tym celu przeprowadził kontrolowany eksperyment, manipulując poziomem infekcji u badanych byków. Jelenie, którym podawano lek przeciwko tasiemcom i nicieniom, co miesiąc przez okres wzrostu poroża, miały istotnie mniej pasożytów jelitowo-żołądkowych niż osobniki, którym podawano placebo. Jednakże wyniki uzyskane z uogólnionego modelu liniowego mieszanego nie wykazały istotnej korelacji między poziomem infekcji pasożytów, a masą ciała i wielkością poroża badanych jeleni. Przypuszczam, że wyniki te mogą być obarczone pewnym błędem, gdyż badano stosunkowo małą próbę osobników i analizowano tylko jedną grupę pasożytów (z rodziny *Trichostrongylidae*).

W dyskusji Doktorant wykazał się dobrą znajomością zagadnień z zakresu biologii ewolucyjnej. Uzyskane wyniki umiejętnie pokazał w świetle dostępnej wiedzy. W konkluzji Doktorant stwierdził, że zarówno wyniki badań w dzikich populacjach, jak i w stadzie hodowlanym nie są zgodne z przewidywaniami hipotezy Hamiltona i Żuk. Zatem, zdaniem Doktoranta, ko-ewolucja między pasożytami a żywicielami nie wydaje się być główną siłą odpowiedzialną za ewolucję ornamentów płciowych u jelenia szlachetnego. Moim zdaniem ta rozprawa nie do końca rozstrzygnęła ten problem, niemniej jednak należy podkreślić, że Doktorant podjął się niezwykle trudnego zadania i uzyskał wartościowe rezultaty.

O ile pod względem naukowym rozprawa doktorska mgr. Buczka prezentuje się bardzo solidnie, to jej słabszą stroną jest prezentacja wyników i opracowanie manuskryptu. Dane o liczebności analizowanych prób, podawane w różnych częściach rozprawy, są niespójne. W podrozdziale 2.1.1. „*Data collection*” podano, że pozyskano próby od 154 jeleni z dwóch dzikich populacji. Natomiast w opisie wyników podano inne liczebności: 152 w analizie wielkości poroża, 93–154 w analizach parazytologicznych, 179 w analizach genetycznych.

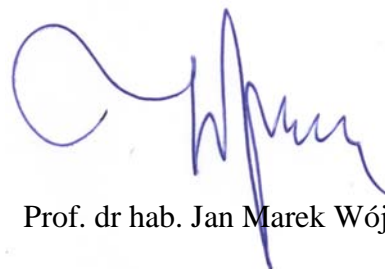
Podano również, że kompletne dane dotyczące poroża i pasożytów uzyskano dla 77 byków, ale nie wiadomo ile w tej liczbie stanowiły osobniki z Bieszczad, a ile z okolic Piły. Szkoda, że Doktorant nie zamieścił odrębnej tabeli, zawierającej szczegółowy wykaz prób pozyskanych i wykorzystanych w poszczególnych analizach (morfologicznych, parazytologicznych i genetycznych). Dla czytelnika tej rozprawy przydatna byłaby również schematyczna mapa Polski z zaznaczonymi obszarami badań. W podrozdziale 2.2.2 „*Experimental design and sample collection*” podano, że w 2012 roku badano 25 byków jeleni w zagrodach hodowlanych, a w roku następnym 17 osobników. Badane byki podzielono na dwie grupy, ale nie podano liczebności tych grup (nie mogły być tej samej wielkości). W podrozdziale 3.1.1. „*Ornament measurements*” nie podano szczegółowych wyników analizy wielkości poroża. Zamieszczono jedynie krótką informację o wykonaniu analizy składowych głównych (PCA), stwierdzając, że pierwsza składowa główna (wielkość poroża) wyjaśniała największą część zmienności, dlatego została wykorzystana w dalszych analizach. Uważam, że rozprawa doktorska powinna zawierać także szczegółowe wyniki, jeśli nie w tekście głównym, to w materiałach uzupełniających. Dotyczy to również danych o wieku i masie tusz badanych jeleni, gdyż wykorzystywano je w modelach liniowych. Należało także podać wyniki dotyczące ilości jaj pasożytów wydalanych przez byki w zagrodach hodowlanych w kolejnych miesiącach (podrozdział 3.2.1. „*Parasites*”). Wiadomo bowiem, że te wartości mogą się zmieniać sezonowo.

Podsumowując stwierdzam, że pomimo krytycznych uwag, rozprawa doktorska Pana mgr. Mateusza Buczka zasługuje na wysoką ocenę, ze względu na jej wartość naukową. Doktorant wykazał się ogólną wiedzą teoretyczną z zakresu biologii oraz potwierdził umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Ta rozprawa jest oryginalna i metodycznie nowatorska. Doktorant dobrze zaplanował swoje badania i wykonał je solidnie z wykorzystaniem nowoczesnych technik i metod badawczych. Wykazał się dobrą znajomością analizy danych z zastosowaniem różnych modeli liniowych dostępnych w pakiecie R oraz w programie SAS. W zależności od rodzaju analizowanych danych (zmiennych) poprawnie zastosował ogólne i uogólnione modele liniowe oraz uogólniony model liniowy mieszany. Zapewne wyniki tej rozprawy zostaną opublikowane w bardzo dobrych czasopiśmie naukowych i będą z zainteresowaniem przyjęte przez innych badaczy.

Wniosek końcowy

Konkludując, stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana mgr. Mateusza Buczka pt. „Antler quality in red deer: a test of Hamilton and Zuk hypothesis” spełnia warunki określone w *Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz. U. z 2003 r. nr 65, poz. 595; ze zm. w Dz. U. z 2011 r. nr 84, poz. 455) oraz w *Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora* (Dz. U. z 2011 r. nr 204, poz. 1200).

Zwracam się zatem do Rady Naukowej Instytutu Nauk o Środowisku, Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pana mgr. Mateusza Buczka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Jan Marek Wójcik