

Poznań, 14.05.2024

prof. UAM dr hab. Adrian Surmacki
Zakład Biologii I Ekologii Ptaków UAM
ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6
61-614 Poznań
adrian@amu.edu.pl

Ocena osiągnięcia habilitacyjnego dr Rafała Martyki pt. „Indukowane środowiskowo efekty matczyne i ich wpływ na rozwój potomstwa u ptaków Wróblowych”

Na osiągnięcie naukowe dr. Rafała Martyki składa się cykl pięciu artykułów opublikowanych w latach 2011-2023. Wszystkie ukazały się w czasopismach figurujących w bazie *Journal Citation Reports*. Jakość tych czasopism mierzona wskaźnikiem *impact factor* była zróżnicowana i wahała się między 1,3 (*Journal of Ornithology*) a 3,8 (*Biology Letters*). W powstaniu omawianych prac brało udział łącznie 11 współautorów. Średnia wielkość zespołu autorskiego to 3,8 (mediana 3). We wszystkich artykułach, z wyjątkiem C4, dr Martyka jest autorem pierwszym i korespondencyjnym. Według bazy Scopus (10.05.2024), artykuły składające się na osiągnięcie, cytowane były łącznie 28 razy (22 razy bez autocytacji). W okresie między 2011 a 2023, jedna praca była cytowana średnio 1,8 razy rocznie (1,4 bez autocytacji).

W pierwszej kolejności ocenię poszczególne prace, na końcu zaś przedstawię opinię na temat całości cyklu.

Artykuł C1

Pierwsza z ocenianych prac zawiera wyniki dwóch niezależnych eksperymentów wykonanych w warunkach laboratoryjnych na zeberkach (*Taeniopygia guttata*). Celem pierwszego z nich było zbadanie mechanizmów przekazywania przeciwciał matczynych potomstwu w zależności od 1) płci oraz 2) kolejności jaja w lęgu. Samice immunizowano czerwonymi krwinkami owcy

(SRBC), które aktywują układ odpornościowy ptaka, w podobny sposób jak patogeny chorobotwórcze. Transfer przeciwciał anty-SRBC oceniano mierząc ich zawartość w żółtkach. Okazało się, że w jajach, w których znajdowały się zarodki żeńskie, poziom przeciwciał był podobny we wszystkich jajach w lęgu, natomiast w jajach męskich, zmniejszał się wraz z kolejno złożonymi jajami w lęgu. W drugim eksperymencie, zbadano jak immunizacja samic (wykonana tą samą metodą jak wyżej) wpływa na wielkość potomstwa w zależności od 1) jego wieku oraz 2) płci. Wyniki eksperymentu pokazały, że córki immunizowanych samic są większe i cięższe, przy czym efekt ten dotyczył tylko piskląt w 12 dniu życia (brak efektu w drugim dniu życia). Immunizacja samic, nie miała istotnego wpływu na ciężar i wielkość synów.

Oba eksperymenty są starannie zaplanowane i wzajemnie się uzupełniają. Procedura badawcza pierwszego eksperymentu wymagała zniszczenia zarodków, dlatego w drugim eksperymencie habilitant skupił się na efekcie immunizacji na cechy wyklutych piskląt. Ponadto, w eksperymencie drugim zastosowano próbę kontrolną (samice nastrzyknięte solą fizjologiczną), której zabrakło w eksperymencie pierwszym. Wymiana piskląt między lęgami (ang. *cross-fostering*), umożliwiła oddzielenie efektu immunizacji matki, od efektu opieki rodzicielskiej. Wyniki pracy w przekonujący sposób pokazują, że samice ptaków aktywnie inwestują w bardziej wrażliwą płć potomstwa (w tym przypadku, córki), zwiększając jej dostosowanie. Proces ten zachodzi już w okresie prenatalnym (etap jaj) a jego skutki utrzymują się długo po wykluciu piskląt. Za najciekawszy wynik omawianego artykułu, uznałbym pokazanie po raz pierwszy, że ilość przeciwciał przekazywanych potomstwu niepreferowanej płci, zmniejsza się wraz z kolejnymi jajami w lęgu. Zdaniem autorów, może to wynikać z różnic wrażliwości na patogen, między potomstwem wyklutym z wczesnych i późnych jaj. Ponadto, nigdy wcześniej nie wykazano, że wpływ immunizacji matki na udatność potomstwa, jest zależny od jego płci, chociaż praca nie wyjaśnia tego mechanizmu.

Jedynym moim zastrzeżeniem dotyczy zgodności pracy z deklarowanym tematem cyklu. Zastanawiam się w jakim sensie efekty matczyne badane w niniejszej pracy są „indukowane środowiskowo”? Wszystkie ptaki użyte w eksperymencie (dorosłe i pisklęta) były przecież hodowane w tych samych laboratoryjnych warunkach.

Artykuł C2

W drugiej publikacji ponownie badano wpływ immunizacji matki oraz warunków odchowu na następujące cechy potomstwa: 1) tempo wzrostu, 2) humoralną odpowiedź immunologiczną oraz 3) wielkość i masę podlotów. Badanie miało charakter eksperymentu terenowego i zostało przeprowadzone na populacji bogatki (*Parus major*) gniazdującej w skrzynkach lęgowych, w dwóch kolejnych sezonach. Immunizację matek oraz test odpowiedzi humoralnej piskląt wykonano za pomocą zastrzyków z lipopolisacharydem (LPS), który uzyskano ze ściany komórkowej bakterii chorobotwórczych. Warunki odchowu modyfikowano (pogarszano), dodając do nich trzy pisklęta z innych lęgów. Tempo wzrostu piskląt mierzono jako różnicę w masie piskląt między piątym a drugim oraz czternastym a piątym dniem życia (odpowiednio, przed i po immunizacji). Kondycję podlotów badano na podstawie masy i długości tarsusa w czternastym dniu życia.

Zgodnie z przewidywaniami autorów, potomstwo immunizowanych matek, wychowywane w powiększonych lęgach, rośnie szybciej w porównaniu z potomstwem matek kontrolnych wychowywanych w lęgach optymalnych (kontrolnych). Różnica ta dotyczy jednak tylko późnej fazy wzrostu (5-14 dzień życia). Podloty w lęgach powiększonych były lżejsze niż w lęgach optymalnych i wyniki ten dotyczył zarówno samic immunizowanych jak i kontrolnych. Ponadto, immunizacja samic wpłynęła pozytywnie na masę podlotów, ale tylko w lęgach powiększonych. Podloty samic immunizowanych miały natomiast krótsze tarsusy w porównaniu do podlotów samic kontrolnych, ale tylko w lęgach optymalnych. Poza tym, potomstwo samic immunizowanych miało silniejszą humoralną odpowiedź immunologiczną, niż potomstwo samic kontrolnych, ale tylko wtedy, gdy były one wychowywane w lęgach kontrolnych. W końcu, potomstwo płci męskiej w 5 dniu życia miało więcej przeciwciał w porównaniu z potomstwem płci żeńskiej.

W omawianym badaniu podoba mi się projekt eksperymentu, w którym zastosowano próbę kontrolną, zarówno w odniesieniu do samic (osobniki z zastrzykiem z soli fizjologicznej zamiast LPS), jak i lęgów (lęgi niepowiększone). Co więcej, w celu oddzielenia wpływu zabiegu prenatalnego i postnatalnego na udatność potomstwa, dwudniowe pisklęta były wymieniane między lęgami samic immunizowanych i kontrolnych. Niemniej jednak, w ocenianym artykule znalazłem kilka niedociągnięć, które dotyczą metod lub ich opisu. Eksperyment był

prorowadzony na tej samej populacji w ciągu dwóch kolejnych sezonów. Jest więc pewne, że część samic gniazdujących tam w 2014, była badana rok wcześniej. Wszystkie samice były obrączkowane, zakładam więc, że każda samica była użyta w eksperymencie tylko raz. Informacji takiej nie ma jednak w opisie metod (a być powinna). Tempo wzrostu (*growth rate*) piskląt badano wyłącznie w oparciu zmiany masy. Moim zdaniem, do pełnej charakterystyki wzrostu potrzebne są jeszcze informacje o wymiarach liniowych, opisujących rozwój kośćca (na przykład tarsus, czaszka). Innymi słowy, przyrost masy niekoniecznie oznacza, że piskląt rośnie. I ostatnia kwestia, u podlotów analizowano oddzielnie masę i długość tarsusa. Zastanawiam się, dlaczego Autorzy nie obliczyli (bazując na tych dwóch pomiarach), jednej z miar kondycji (np.: *scaled mass index*; SMI)? Pomimo tych drobnych uwag krytycznych, całą pracę oceniam bardzo pozytywnie, a uzyskane wyniki za wartościowe. Warto podkreślić, że jest to dopiero trzecia praca, w której badano wpływ warunków odchowu na wzrost i immunokompetencję piskląt, oraz pierwsza, w której wykazano, że efekty matczyne wynikające z immunizacji zależą od warunków odchowu. Co ciekawe, warunki te odmiennie oddziaływały na oba badane parametry kondycji potomstwa. Interesująca jest również obserwacja, że potomstwo męskie miało więcej przeciwciał niż potomstwo żeńskie, co sugeruje odmienną strategię alokacji przeciwciał przez samice niż ta, którą wykazał eksperyment opisany w pracy C1.

Artykuł C3

Omawiana praca została przeprowadzona na bogatce, w oparciu o taki sam schemat eksperymentalny jak w artykule C2. Głównym celem badania było sprawdzenie, jak immunizacja matek za pomocą LPS oraz warunki odchowu (lęg o optymalnej wielkości oraz powiększone) wpływają na trzy cechy zachowania piskląt, które mogą odzwierciedlać poziom stresu: potulność, tempo oddychania i agresję. Ponadto, sprawdzono jak warunki odchowu oraz immunizacja matek, wpływają na masę ciała oraz długość tarsusa podlotów (piskląta w 14 dniu życia).

Wbrew oczekiwaniom autorów, nie stwierdzono, aby immunizacja samicy ani interakcja między tym czynnikiem a warunkami odchowu, miały istotny wpływ na zachowanie piskląt. Wykazano natomiast istotny, niezależny od immunizacji wpływ wielkości lęgu na tempo oddychania i poziom agresji potomstwa. Wynik był jednak odwrotny od spodziewanego: piskląta w powiększonych lęgach oddychały wolniej i były mniej agresywne.

Pisklęta z łęgów kontrolnych (niepowiększonych) były cięższe niż te z łęgów powiększonych, ale efekt ten był widoczny tylko w przypadku potomstwa samic kontrolnych (nieimmunizowanych). Potomstwo samic immunizowanych miało krótszy tarsus w porównaniu do potomstwa samic kontrolnych, przy czym dotyczyło to tylko łęgów kontrolnych. Ponadto, potomstwo wychowywane w łęgach powiększonych miało krótsze skrzydło niż w łęgach kontrolnych.

Pomimo, że wyniki pracy nie potwierdziły większości wstępnych założeń, uważam, że Autorowi należy się pochwała za podjęcie tematu. Wpływ efektów matczynych na zachowanie potomstwa, nie jest częstym obiektem badań. Autor podjął temat bazując na uzasadnionych przesłankach, wskazujących, że aktywacja immunologiczna piskląt może zwiększać u nich poziom stresu, oraz że efekt ten może być łagodzony przeciwciałami dostarczonym przez matkę w okresie prenatalnym. Manipulacja warunkami odchowu stanowi dodatkowy walor pracy. Wszystkie hipotezy zostały testowane za pomocą zgrabnie zaplanowanego eksperymentu, co podnosi wiarygodność uzyskanych wyników.

Poza analizą zachowania piskląt, w pracy badano również wpływ immunizacji i warunków odchowu na masę i wielkość ciała podlotów. Jest to zastanawiające, biorąc pod uwagę, że dokładnie takie same analizy wykonano w pracy C2. Badania opisane w artykułach C2 i C3 prowadzono na bogatce w tym samym miejscu (Puszcza Niepołomska) i czasie (2014), co wskazuje, że w omawianej pracy przeanalizowano dokładnie te same dane co w artykule C2 tyle, że dla jednego roku (2014). Takie podejście jest dla mnie zupełnie niezrozumiałe i trąci auto-plagiatem. W analizach z pracy C3 pojawiają się w prawdzie nowe elementy (długość skrzydła, rozbudowane testy post-hoc, procent wyjaśnianej zmienności), ale generalnie nie zmienia to podstawowych konkluzji z pracy C2, która była wykonana tymi samymi metodami, tylko na około dwa razy większej próbie. Główna różnica w wynikach między obiema pracami polega na tym, że w C2 podloty w łęgach powiększonych były zawsze lżejsze niż w kontrolnych, natomiast w C3 różnica dotyczyła tylko samic kontrolnych. Co ciekawe, w artykule C3, Autorzy bardzo ogólnikowo odnoszą się do pracy C2, poprzestając na stwierdzeniu o „potwierdzeniu wcześniejszych wyników”. Moim zdaniem, omawiane analizy w ogóle nie powinny pojawić się w artykule C3.

Artykuł C4

Głównym celem omawianej pracy było zbadanie wpływu temperatury środowiska gniazdowego, na zachowania inkubacyjne samic oraz rozwój piskląt. Badania przeprowadzono na postaci eksperymentu na populacji muchołówki żałobnej (*Ficedula hypoleuca*) gniazdującej w skrzynkach lęgowych. W części skrzynek (grupa eksperymentalna) podgrzewano powietrze podczas całego okresu inkubacji, co spowodowało wzrost temperatury o około 2,5 stopnia Celsjusza, w porównaniu z grupą kontrolną. Temperatura inkubacji samic nie różniła się istotnie między typami skrzynek. Stwierdzono natomiast, że samice ze skrzynek podgrzewanych spędzały mniej czasu w gnieździe, miały mniej przerw w wysiadywaniu, chociaż średni czas trwania tych przerw był podobny jak u samic kontrolnych. Potomstwo z obydwu typów skrzynek nie różniło się pod względem sukcesu klucia, przeżywalności, długością tarsusa oraz masą ciała w drugim dniu życia. Stwierdzono natomiast, że dwunastodniowe pisklęta ze skrzynek podgrzewanych, były cięższe od piskląt ze skrzynek kontrolnych.

Nie mam zastrzeżeń do projektu eksperymentu, wielkości próby, metody pomiarów oraz analizy danych. To co natomiast budzi mój niepokój, to brak spójności tematycznej omawianego artykułu z poprzednimi pracami (artykuły C1-C3). Z całą pewnością badania zaprojektowano tak, aby zbadać wpływ temperatury wnętrza skrzynki lęgowej na zachowania inkubacyjne samic. To czy zachowania te mogą wpływać na parametry potomstwa, pozostaje kwestią dyskusyjną. W tym przypadku nie da się oddzielić efektu zachowania samicy od działania samej temperatury, która oddziałuje przecież zarówno na samicę jak i jej potomstwo. Moim zdaniem, uzyskane wyniki wskazują, że decyzje samic w związku z podwyższoną temperaturą, nie wpłynęły na rozwój potomstwa. Jak podkreślają sami Autorzy, samice działały raczej jak „bufor”, dzięki któremu pisklęta w obu typach skrzynek otrzymały tyle samo energii cieplnej. Oczywiście, nadwyżki czasowe, uzyskane przez samice eksperymentalne teoretycznie mogły posłużyć im do zbudowania lepszej kondycji na czas karmienia, która z kolei mogła przełożyć się na większy przyrost masy piskląt. Jednak, aby to zbadać, należałoby skorelować zmiany kondycji samic w czasie inkubacji ze wzrostem piskląt, a takich analiz zabrakło w pracy.

Artykuł C5

Ostatni artykuł z cyklu dotyczy pośredniego i nieletalnego oddziaływania drapieżników na zachowania reprodukcyjne ptaków. Badanie miało formę eksperymentu terenowego przeprowadzonego na populacji bogatki, gniazdującej w skrzynkach lęgowych. Badany obszar podzielono na 12 powierzchni, które przydzielonych losowo do jednej z trzech grup: eksperymentalnej, kontrolnej proceduralnej i kontrolnej zwykłej. Na powierzchniach eksperymentalnych, w okresie budowy gniazd i składania jaj, rozmieszczono stopy białych puchowych piór gęsi domowej, które miały imitować pozostałości po oskubywaniu ofiar przez krogulca (*Accipiter nisus*). Na powierzchniach z kontrolą proceduralną, zamiast piór pozostawiono stopy zrębków jasnego drewna. Na powierzchniach kontrolnych zwykłych nie prowadzono procedur eksperymentalnych.

Skrzynki lęgowe były zajmowane równie często na wszystkich trzech typach powierzchni. Nie stwierdzono również wpływu eksperymentu, na datę złożenia pierwszego jaja, wielkość zniesienia, sukces klucia i liczbę podlotów. Jaja składane na powierzchniach eksperymentalnych i kontrolnych proceduralnych miały większą objętość niż jaja na powierzchni kontrolnej. Ponadto, jaja samic z powierzchni eksperymentalnych miały bardziej spiczasty kształt niż jaja samic z powierzchni kontrolnych. Eksperyment nie wpłynął na masę oraz długość tarsusa piskląt.

Omawiana praca jest w moim odczuciu najślabszą z całego cyklu. Zdecydował o tym projekt eksperymentu opierający się, na co najmniej wątpliwych założeniach. Po pierwsze jako stresora użyto piór puchowych gęsi domowej. Gatunek ten z całą pewnością nie występował na badanej powierzchni i nie może być potencjalną ofiarą krogulca. Jest zatem wątpliwe, aby bogatki mogły skojarzyć obecność gęsich piór z tym konkretnym drapieżnikiem. Do tego celu najlepiej nadawały by się pióra bogatki lub innego gatunku wróblaka, występującego na badanym obszarze. Kwestia ta jest o tyle ważna, że ptaki doskonale widzą kolory i potrafią je oceniać. Po drugie, w pracy nie zbadano u samic poziomu stresu (np.: na poziomie hormonalnym), więc nie przekonuje mnie argumentacja Autorów, że samice mogły zareagować na „ślady obecności drapieżnika”, składając jaja o odmiennym kształcie i wielkości. Uzyskane wyniki mogą wynikać z szeregu innych czynników, które nie były kontrolowane. Na przykład mikro-środowiskowych różnicach między powierzchniami (których nie testowano) czy obecności gęsich piór w gniazdach bogatek. Podsumowując,

metodyka użyta w niniejszej pracy pozwala na zbadanie związku między czynnikiem środowiskowym (tj. obecnością drapieżnika), stanem samic (tj. poziomem stresu) i kondycją potomstwa.

Podsumowanie oceny osiągnięcia naukowego

W zamyśle Autora, tematyka prac koncentruje się wokół dwóch kwestii 1) wpływu efektów matczynych na zmienność fenotypową potomstwa oraz 2) warunków środowiskowych, jako czynnika modulującego ten proces. W moim odczuciu zamysł ten najlepiej został zrealizowany w pracach C2 i C3. W obu pracach, efektem matczynym były przeciwciała, powstałe w wyniku ekspozycji samic na specyficzne antygeny, naśladujące naturalną aktywację systemu odpornościowego gospodarza. Jako czynnik środowiskowy potraktowano wielkość lęgu. W omawianych pracach Autorzy badali cały zestaw cech fenotypowych potomstwa; tempo wzrostu, rozmiary ciała podlotów, odpowiedź immunologiczną oraz cechy zachowania związane z reakcją na stres. Oba badania zostały starannie zaplanowane i zrealizowane w postaci eksperymentów terenowych. Pomimo, że przeprowadzono je na dzikich ptakach, Autorzy kontrolowali wszystkie etapy eksperymentu. Dotyczyło to na przykład skuteczności immunizacji, konstrukcją prób kontrolnych (samic i potomstwa) czy manipulacji wielkością lęgu. Jedyna rzecz, do której można mieć zastrzeżenia to fakt, że Autorzy nie obliczyli kondycji piskląt, a zamiast tego analizowali osobno masę i długość tarsusa. Artykuł C1, podobnie jak artykuły C2 i C3, dotyczy alokacji przeciwciał matki w obrębie potomstwa i ich wpływu to na jego fenotyp. Badania, mające charakter eksperymentu laboratoryjnego, dostarczyły chyba najbardziej spektakularnych wyników i prawdopodobnie z tego właśnie względu, ukazały się najbardziej prestiżowym czasopiśmie i były najlepiej cytowane. Jedyny problem, jaki dostrzegam w omawianym badaniu polega na braku aspektu środowiskowego. Tym samym, artykuł C1, tylko częściowo odpowiada tytułowi osiągnięcia. Domyślam się, że habilitant włączył go do cyklu jako swego rodzaju wstęp i uzupełnienie artykułów C2 i C3, w którym przybliży czytelnikom mechanizmy alokacji przeciwciał matczynych w obrębie potomstwa.

Najbardziej dyskusyjna część osiągnięcia habilitanta to prace C4 i C5. W pracach tych, efekty matczyne były modyfikowane odpowiednio przez temperaturę środowiska

gniazdowego i stres spowodowany obecnością drapieżników. Doceniam same pomysły badawcze, jednak sposób weryfikacji postawionych hipotez pozostawia wiele do życzenia. W przypadku pracy C4, główny problem polega na niemożności oddzielenia wpływu zachowania samicy od samej temperatury skrzynek lęgowych, która oddziaływała zarówno na samicę jak i rozwijające się zarodki. W artykule C5 z kolei, wątpliwe jest użycie gęsiich piór w środowisku ptaków jako stresora wizualnego związanego z obecnością drapieżnika (krogulca). Oczywiście wyobrażam sobie, że taki efekt jest możliwy, ale w pracy zabrakło testu skuteczności zabiegów eksperymentalnych (na przykład badania poziomu stresu u samic gniazdujących w sąsiedztwie wystawionych piór).

Wnioski końcowe

Pomimo powyższych uwag krytycznych, uważam, że cykl artykułów zatytułowanych „Indukowane środowiskowo efekty matczyne i ich wpływ na rozwój potomstwa u ptaków Wróblowych” przedstawionych przez dr. Rafała Martykę jako osiągnięcie habilitacyjne, jest spójny tematycznie, i tym samym spełnia jedno z kryteriów wymienionych w art. 219 ust. 1 pkt. 2 lit. b) ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Nie mam także wątpliwości, że zaprezentowany cykl prac spełnia kryterium wymienione w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. ust. 1 pkt. 2 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, które dotyczy znacznego wkładu przedstawionego osiągnięcia naukowego w rozwój dyscypliny, w tym przypadku, nauk biologicznych. Habilitant wykazał, że samice ptaków Wróblowych, mogą aktywnie wpływać na cechy fenotypowe swojego potomstwa, zarówno na pre- i postnatalnym etapie ich życia. Ponadto, jak wynika z lektury prac, zjawisko to może być regulowane różnymi czynnikami środowiskowymi. Z racji tego, że badane cechy potomstwa wpływają bezpośrednio jego dostosowanie, osiągnięcie dr. Rafała Martyki stanowi cenny wkład w zrozumienie mechanizmów ewolucji ptaków. Omawiane prace były cytowane w międzynarodowej literaturze, co świadczy o tym, że jego działalność naukowa ma wpływ na rozwój nauki.

Do najważniejszych osiągnięć zawartych w prezentowanym cyklu zaliczył bym: 1) wykazanie, że transfer przeciwciał samicy do potomstwa, zależy od jego płci oraz kolejności składanych jaj; 2) wykazanie, że ilość przekazanych przeciwciał przekłada się na kondycję potomstwa w późniejszych etapach życia w sposób zależny od jego płci; 3) wykazanie, że wpływ transferu przeciwciał na fenotyp potomstwa jest warunkowany warunkami

odchowu; 4) zbadanie wpływu transferu przeciwciał oraz warunków odchowu na zachowanie potomstwa.

Biorąc pod uwagę wszystkie uwagi i konkluzje zawarte w niniejszej recenzji, pozytywnie oceniam osiągnięcie naukowe dr Rafała Martyki pt. „Indukowane środowiskowo efekty matczyne i ich wpływ na rozwój potomstwa u ptaków Wróblowych”. Tym samym, wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o nadanie dr Rafałowi Martyce stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Adrian Surmacki