

**Prof. dr hab. Jerzy Bańbura**  
**Katedra Zoologii Doświadczalnej**  
**i Biologii Ewolucyjnej**  
**Uniwersytetu Łódzkiego**

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Szymona Drobnika pt. „Genetic correlations and evolutionary potential of quantitative traits in the blue tit (*Cyanistes caeruleus*)”**

Rozprawa doktorska mgr. Szymona Drobnika jest nadzwyczaj interesującym i wartościowym dziełem naukowym z zakresu genetyki ewolucyjnej, wykonanym pod kierunkiem profesora Mariusza Cichonia. Doktorant badał cechy ilościowe sikor modrych w dzikiej populacji zasiedlającej szwedzką wyspę Gotlandię. Właśnie na Gotlandii jest zlokalizowany terenowy system doświadczalny zespołu badawczego Larsa Gustafssona z Uniwersytetu w Uppsali, stanowiący podstawę wielu międzynarodowych projektów naukowych. Od lat w badaniach nad populacjami dziuplaków wtórnych zasiedlających budki lęgowe składające się na ten system uczestniczą badacze z UI z prof. M. Cichoniem na czele. Ten system doświadczalny ma znakomite zalety związane ze swoją dużą skalą ilościową oraz pewnymi specyficznymi cechami populacji ptaków, w tym znacznym procentem lokalnych młodych ptaków przystępujących następnie do rozrodu w obrębie arealu rodzimej populacji. To wszystko sprawia, że gotlandzkie populacje muchołówek czy sikor stanowią znakomity obiekt interdyscyplinarnych badań międzyrodowych. Produkcja naukowa oparta na badaniach tych populacji jest niezwykle obfita i bardzo wysokiej jakości. Jest to zatem wprost wymarzony system doświadczalny dla projektów doktorskich, z czego doktoranci ze znakomitym skutkiem korzystają. Takim właśnie projektem był ten stanowiący podstawę rozprawy doktorskiej mgr. Szymona Drobnika.

Omawiana rozprawa doktorska formą bardzo przypomina wzorce skandynavskie. Jest napisana w języku angielskim książka, zaopatrzona w streszczenie po polsku. Jej rdzeń stanowi seria czterech rozdziałów głównych, które są pełnowymiarowymi artykułami naukowymi – jeden już został opublikowany w Journal of Evolutionary Biology, zaś trzy pozostałe są gotowymi do publikacji manuskryptami, zapewne także już rozpatrywanymi przez redakcję czasopism. Rozdziały zasadnicze są poprzedzone wstępem, zaś po nich następuje dyskusja ogólna. Całość liczy 108 stron druku.

Podjęcie doktoranta do genetyki cech ilościowych wolnożyjących sikor jest nowoczesne zarówno w aspekcie metod eksperymentalno-terenowych, jak i analizy danych. Na przykładzie tej rozprawy widać, jak bardzo genetyka cech ilościowych dzikich populacji ptaków się rozwinęła od pierwszych publikacji. Pierwsze prace, które prezentowały oszacowania odziedziczalności pojawiły się w latach 70. XX w. W 1973 r. P. J. Jones oszacował odziedziczalność kilku zmiennych charakteryzujących rozród sikor bogatek w świetnie cytowanej, ale nigdy nie opublikowanej w całości pracy doktorskiej zrealizowanej w Oksfordzie – część dotycząca odziedziczalności wielkości zniesienia wysza jako osobna praca (Pertins i Jones 1974). Później genetyka ilościowa dzikich populacji stała się bardziej popularna, ale jednak rozwój badań był ograniczony, gdyż w warunkach terenowych nie było możliwe stosowanie kompletnych układów doświadczalnych, jak w warunkach hodowlanych. Niekompletność bardziej skomplikowanych układów doświadczalnych powodowała, że nie można było dokonać estymacji tradycyjnymi metodami statystycznymi najmniejszych kwadratów.

Trzy z zasadniczych rozdziałów pracy doktorskiej S. Drobniaka w pełni wykorzystują postęp, jaki się dokonał zarówno w procedurach doświadczalnych dostępnych w terenie, jak i w zakresie metod analizy danych. Rozdział czwarty ma charakter syntezy wiedzy o związkach odziedziczalności i korelacji genetycznej, która to synteza jest oparta na meta-analizie danych z literatury. Część empiryczna rozprawy (rozdziały 1-3) jest oparta na trzech kolejnych eksperymentach terenowych, dla których metodycznym elementem wspólnym jest wykorzystanie zamiany piskląt między legami dla uzyskania możliwości odseparowania efektów przebywania w tym samym gnieździe od efektów związanych z pokrewieństwem, co umożliwiło dokonanie oszacowań parametrów genetyczno-ilościowych dla układu „pełnego rodzeństwa” (ang. full-sib). Dzięki molekularnemu oznaczeniu płci, doktorant mógł wykorzystać pięć jako czynnik tam, gdzie to było potrzebne.

Ponieważ omawiam obecnie elementy wspólne dla głównej części rozprawy, to od razu wspomnę o czymś, co odbieram jako słabszy jej element. Jest zupełnie oczywiste, że rozdziały główne, które stanowią osobne prace, mają formę i zakres odpowiadający stosownym wymogom redakcyjnym. Szczególnie w przypadku artykułu już opublikowanego dyskusowanie zakresu opisu jest bezprzedmiotowe. Jednak w przypadku, kiedy główną część doktoratu stanowi seria osobnych prac, to można byłoby wykorzystać część wstępną do dokładniejszego przedstawienia wspólnej bazy metodycznej. Mnie najbardziej brakuje rozpisania, jak wariacje z poszczególnych źródeł dzielą się na komponenty wariacyjne (i kowariancyjne), które są ostatecznie użyte do wyliczenia odziedziczalności (i korelacji

genetycznej). Ze zwieżyłych z konieczności opisów w poszczególnych pracach domyślam się, że wszystko jest w najlepszym porządku, z modelowaniem statystycznym i estymacją parametrów i komponentów przeprowadzonymi przy użyciu pakietu MCMCglmm w środowisku R, ale taki szerszy opis byłby wskazany. Nie byłoby też przy tej okazji błędem napisać nieco na temat samej odziedziczalności, w tym o podziale na odziedziczalność w wąskim i szerokim sensie. Krótko mówiąc, uważam, że nieco rozbudowana część wstępna przyniosłaby rozprawie doktorkiej S. Drobnika korzyści, które oczywiście nie są zasadnicze, ale które zapewne ułatwiłyby lekturę szerszemu gronu biologów.

Rozdział I, który stanowi wcześniej wspomniana już opublikowana praca, dotyczy odziedziczalności komórkowej reakcji odpornościowej indukowanej śródskórnym wstrzyknięciem roztworu fitohemaglutyniny (PHA) w patagium piskląt. Eksperyment przeprowadzono na znaczącej próbie, liczącej 51 par lęgów, po uwzględnieniu ubytku z przyczyn pozaksperymentalnych. Pary lęgów były skojarzone pod względem czasu klucia i liczby piskląt. Zasadniczym zabiegiem eksperymentalnym była wzajemna wymiana połowy piskląt między takimi skojarzonymi lęgami. Ponadto, jeden wylosowany z każdej pary lęg powiększono o 3 pisklęta pochodzące z gniazd spoza eksperymentu – celem tego zabiegu był kontrolowany wpływ na warunki bytowania piskląt. U wszystkich piskląt oznaczano płęć przy użyciu analizy DNA, co pozwoliło na uwzględnienie płci jako czynnika w analizie. Wykryto istotną odziedziczalność badanego wskaźnika odpornościowej odpowiedzi komórkowej. Nadzwyczaj ciekawym i nowatorskim wynikiem jest stwierdzenie, że różni się między płciami – odziedziczalność była wyższa u samiec niż u samic. Zaznaczyła się też pewna mniej wyraźna tendencja do osiągnięcia wyższej wartości w lęgach kontrolnych w stosunku do lęgów eksperymentalnie powiększonych.

Praca ukazała się drukiem w jednym z najbardziej renomowanych czasopism z zakresu biologii ewolucyjnej, co potwierdza jej znakomitą jakość. Bardzo ciekawa jest dyskusja wskazująca na potencjalną rolę interakcji gonotyp-płęć (jako specjalnego przypadku interakcji genotyp-środowisko) w utrzymywaniu się zmienności genetycznej odpowiedzi odpornościowej. Mimo że bezwzględnie rozdział ten prezentuje najwyższą jakość, to jest coś, czego czytelnikowi trochę brakuje. Chodzi mi o pewne statystyki opisowe dotyczące lęgów uwzględnionych w eksperymencie, jak i natężenia samej opuchlizny skóry wywołanej przez nastrzyknięcie PHA. W przypadku lęgów każdy czytelnik znający ptaki chętnie by się zorientował, jakie była średnia wielkość lęgów, między którymi dokonywano wymiany i jak wyglądała średnia dla lęgów, które powiększono, a także, jakie były proporcje płci. Tak samo, prosta średnia wartość grubości indukowanej przez PHA opuchlizny patagium dawalaby

czytelnikom szansę zorientowania się, o jakim zakresie zmienności jest mowa w artykule. Taki sam niedosyt co do statystyk opisowych odczuwam również w przypadku dwóch kolejnych rozdziałów. Oczywiście doskonale rozumiem, że celem wszystkich prac zawartych w rozprawie jest dokonywanie podziału zmienności w odniesieniu do kontrolowanych eksperymentalnie czynników, a nie opis. Niemniej właśnie podstawowy opis byłby moim zdaniem cennym uzupełnieniem.

Rozdział II dotyczy w największym skrócie korelacji genetycznej, a właściwie braku korelacji genetycznej między płciami w natężeniu związanego z karotenoidami ubarwienia piór pokrywających piersi i brzuch sikor modrych. Pióra te są żółte i w literaturze podkreślana jest zwykle ich rola w sygnalizacji jakości osobniczej. Co ciekawe, żółta barwa piór występuje zarówno u samców, jak i samic, a także u piskląt, które są obiektem eksperymentalnym pracy. W omawianym rozdziale cecha ta, poprzez jej mierzalne składowe, jest traktowana jako cecha ilościowa stanowiąca ornament płciowy. Dlaczego wobec tego występuje ona u obu płci? Najczęściej spotykanym w literaturze wyjaśnieniem występowania takich cech sygnalizacyjnych u obu płci jest obustronny dobór płciowy lub jednostronny dobór płciowy, któremu towarzyszy silna korelacja genetyczna. Procedura eksperymentalna polegała na wymianie piskląt między legami z równoczesnym tworzeniem zabiegu powiększania legu o 3 pisklęta (wobec zabiegu kontrolnego). Dla porównania zbadano w tym samym układzie długość odcinka tarso-metatarsalnego nogi, tzw. skoku, o którym wiadomo, że dość precyzyjnie odzwierciedla strukturalne rozmiary ciała ptaków i charakteryzuje się wysoką odziedziczalnością. Odziedziczalności składowych ubarwienia okazały się istotnie, ale bardzo słabo odziedziczalne, zaś korelacje genetyczne między płciami nieistotnie różne od 0. Wyniki te wskazują, że karotenoido-zależny sygnał może bez ograniczeń genetycznych ewoluować niezależnie o każdej z płci.

Rozdział III analizuje odziedziczalność komórkowej odpornościowej na PHA, masę ciała i długość skoku piskląt sikor modrych w relacji do wieku ich matek. Podstawą był kolejny eksperyment terenowy polegający na zamianie części piskląt między legami, który obejmował równocześnie powiększenie części legów o 3 pisklęta. W pracy pokazano, że interakcja genotyp-wiek matki była istotna dla odpornościowej i dla masy ciała. Odziedziczalność była niższa u potomstwa matek starszych, a wyższa u piskląt matek młodszych.

A zatem trzy zasadnicze rozdziały rozprawy doktorskiej S. Drobniaka przeprowadzają analizę odziedziczalności, korelacji genetycznych i pewnych związków z nimi parametrów różnych cech piskląt sikor modrych, w tym cech uznawanych za blisko związane z

dostosowaniem i cech sygnalizacyjnych. Pewnym dopełnieniem badań eksperymentalnych jest zawarta w rozdziale IV metaanaliza relacji między odziedziczalnością a korelacją genetyczną przeprowadzona na podstawie danych wyekstrahowanych z literatury. Zasadniczo przedmiotem analizy jest testowanie powszechnej w literaturze koncepcji, że korelacja genetyczna powinna pozostawać w pozytywnym związku z odziedziczalnością/addytywną zmiennością genetyczną. W części wstępnej tego rozdziału pojawia się pewne uzasadnienie dla oczekiwania, że taki związek może nie występować. Pada tu teza, że w sensie matematycznym kowariancja jako główne źródło korelacji nie zależy od wariancji – co miałyby być uzasadnieniem analogicznej tezy dla relacji między korelacją genetyczną a odziedziczalnością. Nie do końca mogę się z tym zgodzić. W czasach przedkomputerowych, w obliczeniach statystycznych, w tym w obliczeniach genetyczno-ilościowych (np. O. Komphorne (1957) An Introduction to Genetic Statistics), wykorzystywano znaną z matematycznych podstaw statystyki równość:

$$2 * cov(x, y) = var(x+y) - var(x) - var(y)$$

Oczywiście wpływ wariancji każdej cech  $x$  i  $y$  z osobna na kowariancję będzie zależał od tego jak wysoka jest wariancja sumy tych cech. Wracając jednak do genetyki ilościowej – ponieważ w badaniach nad dzikimi populacjami zazwyczaj mamy do czynienia z umiarkowanymi wartościami odziedziczalności i korelacji genetycznej, których estymatory są uzyskane pod całym szeregiem założeń, to ich precyzja zapewne nie jest najwyższa (szerokie przedziały ufności). W tej sytuacji, nie dziwi mnie stwierdzenie w tym rozdziale brak silnego związku między odziedziczalnością a korelacją genetyczną na podstawie danych z literatury. Doktorant jest w pełni świadomy ograniczeń, jakie na szacowanie parametrów genetyczno-ilościowych nakładają specyficzne uwarunkowania dotyczące populacji naturalnych i prowadzonych na nich eksperymentów.

Dysertację zamyka **DYSKUSJA OGÓLNA**, która w sposób syntetyczny odnosi całość uzyskanych wyników do literatury przedmiotu i uznanych teorii. Doktorant ujawnia tu ponownie swój talent do zwięzłego i celnego ujmowania przedmiotu rozważań. Każdy kolejny rozdział stanowi oryginalny i nowatorski wkład do wiedzy. Utwierdza mnie to w przekonaniu z lektury wcześniejszych części, że mgr Szymon Drobniak jest świetnie zapowiadającym się biologiem o bardzo szerokich horyzontach. Znakomicie opanował metody terenowych badań nad ptakami, opracował interesującą koncepcję teoretyczną projektu doktorskiego oraz opanował nowoczesne metody modelowania statystycznego. Domyślam się, że był cenionym uczestnikiem międzynarodowego zespołu badaczy.

Jako jedna z najciekawszych naukowo rozpraw doktorskich, jakie miałem okazję ocenić, z całą pewnością spełnia ona wszystkie kryteria, które wyznacza obowiązujące prawo o stopniach naukowych. Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr. Szymona Drobniaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Uważam, że jego rozprawa doktorska zasługuje na nagrodę za znakomity poziom i o taką nagrodę wnioskuję do Wysokiej Rady.



Łódź, 21 maja 2012 r.