UNIWERSYTET IM. ADAMA MICKIEWICZA W POZNANIU
Wydział Biologii
Zakład Zoologii Systematycznej

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Tadeusiak

pt. „Cechy warunkujące sukces rozrodczy u gryzoni o promiskuistycznym systemie kojarzenia – na przykładzie nornika północnego (*Microtus oeconomus*)"

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska zatytułowana "Cechy warunkujące sukces rozrodczy u gryzoni o promiskuistycznym systemie kojarzenia – na przykładzie nornika północnego (*Microtus oeconomus*)" obejmuje 97 stron w tym 15 tabel, 10 fotografii, 12 rycin ilustrujących uzyskane wyniki. Wykaz piśmiennictwa zawiera 165 pozycji cytowanych w tekście.

Praca ma charakter klasycznej rozprawy doktorskiej z głównymi rozdziałami obejmującymi: Streszczenie w języku polskim i angielskim, Spis treści, Przegląd literatury, Opis badanego gatunku, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusję, Wnioski i Piśmiennictwo.

Spis treści:

Spis treści jest ważną częścią pracy, informuje o koncepcji przyjętej przez autora i organizuje treść w logiczną całość. W zaproponowany przez Doktorantkę układ treści wkradł się nieład, który świadczy o braku dbałości o szczegóły. Np. w Rozdziale 3 (Materiał i metody) i 4 (Wyniki) badane parametry powinny być uporządkowane według tych samych kategorii i przedstawione w tej samej kolejności w obu rozdziałach. Ułatwiłoby to w sposób znaczący czytanie i analizowanie treści tych rozdziałów.

Wstęp:

Na 15 stronach wstępu (str.15-29) Autorka prezentuje przegląd literatury na temat problematyki podjętej w badaniach. Definiując pojęcie sukcesu rozrodczego, opisując strate-

ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań
tel. +48 61 829 57 98, fax +48 61 829 56 36
baraniak@amu.edu.pl
www.zzs.amu.edu.pl

gie rozrodcze samców i samic oraz prezentując dotychczasową wiedzę na temat czynników, które mogą wpływać na sukces rozrodczy gryzoni stworzyła bazę teoretyczną dla podjętych badań. Jest to bardzo wnikliwie i starannie opracowany rozdział. Z jego analizy wynika, że Doktorantka doskonale orientuje się w światowym piśmiennictwie dotyczącym aspektów badań, które podjęła.

Opis badanego gatunku:

Na czterech stronach Doktorantka opisuje obiekt badań. Jest to dobrze napisany rozdział, jednak pewne kwestie są potraktowane zbyt lakonicznie. Oczekiwałabym, że Autorka odniesie się do stanu wiedzy na temat parametrów użytych w badaniach w odniesieniu do nornika północnego, a tym samym uzasadni wybór cech, które posłużyły do oceny sukcesu rozrodczego u tego gatunku.

Mimo, że nie jest to praca taksonomiczna Autorka powinna zapoznać się z aktualnym statusem taksonomicznym gatunku. Według nowszych danych niż te, które są zawarte w "Kluczu do oznaczania ssaków Polski" Pucka z 1984 roku nornik północny *Microtus oeconomus* klasyfikowany jest w rodzinie Cricetidae, w podrodzinie Arvicolinae (Wilson i Reeder 2008). Ponadto Autorka źle cytuje dane z klucza, ponieważ klasyfikuje nornika północnego do rodziny Arvicoline (takiej nie ma) a nie do Arvicolidae jak jest zamieszczone w źródle, na które się powołuje. Ponadto, należałoby wiedzieć, że aktualnie nazwy naukowe w randze wyższej niż rodzaj nie pisze się kursywą.

Cel badań:

Rozdział "Cel badań" (str. 35) zawiera jednozdaniowy cel ogólny, który jest powtórzeniem tematu pracy. Nie rozumiem takiej postawy Autorki. Dobrze napisany pierwszy rozdział ze znakomicie przeprowadzoną analizą zapowiadał, że Autorka sformułuje hipotezy lub przynajmniej jasno sprecyzowane cele. Doktorantka przeprowadzała eksperymenty zarówno w laboratorium, jak i w środowisku naturalnym, a postawienie hipotez powinno być w takim przypadku zabiegiem podstawowym. Brak sprecyzowanych hipotez wpływa ujemnie na ocenę tej pracy jako pełnego dzieła naukowego.

Materiał i metody:

Rozdział ten jest podzielony bardzo przejrzyście na kilka podrozdziałów (str. 37-52). W części dotyczącej lokalizacji i charakterystyki terenu badań oraz powierzchni eksperymentalnych są wszystkie potrzebne informacje. Zamieszczone zdjęcia i schematy uzupełniają dobrze wykonany opis. Tylko na fotografii 3 (str. 39) nie znalazłam lokalizacji jednej z

dwóch powierzchni otwartych, na których odławiano osobniki do wolier eksperymentalnych.

Metody badań terenowych:

Metody badań terenowych to bardzo dobrze napisany podrozdział. W jasny sposób Doktorantka opisała metody odłowu norników, oceny liczebności, oszacowania masy ciała, płci i aktywności rozrodczej, sposób znakowania badanych osobników oraz warunki przetrzymywania zwierząt wykorzystywanych do testów laboratoryjnych. W kontekście opisów metod laboratoryjnych przedstawionych w dalszej części pracy widać, że Doktorantka samodzielnie przeprowadziła badania terenowe. Ponadto uzyskała komplet pozwoleń na przeprowadzenie badań na zwierzętach w obszarze chronionym.

Interesuje mnie jak Autorka identyfikowała przyżyciowo złapane osobniki do gatunku *Microtus oeconomus*, który jest bardzo podobny do nornika burego *Microtus agrestis*. Cechy pozwalające na ich rozróżnienie to różnica w budowie zębów, a gatunki te mogą zasiedlać te same biotopy. Jak wynika z analizy najnowszego "Atlasu ssaków" oba gatunki są wykazywane z kwadratu 18EJ, w którym zlokalizowana jest ta powierzchnia badawcza.

Dwa aspekty budzą moją wątpliwość w tym rozdziale:

1. Chciałbym, aby Doktorantka opowiedziała na pytanie: Czy odłowione na poletkach otwartych norniki północne były wprowadzane do wolier eksperymentalnych, które były zasiedlone czy niezasiedlone przez inne osobniki tego gatunku. Z tekstu to nie wynika.
2. Autorka informuje w tym rozdziale o pobraniu tkanek do badań genetycznych. Interesuje mnie z jakich części ciała pobierano materiał genetyczny (nie znalazłam tej informacji również w opisie metod genetycznych) i jaki to miało wpływ na kondycję osobników, która jest istotna przy ocenie ich aktywności w środowisku. Obecnie dla gryzoni są już opracowane nieinwazyjne metody analizy materiału genetycznego z cebulek włosowych (Reiners i in. 2011*).

* Reiners T. E., Encarnação J. A., Wolters V. 2011. An optimized hair trap for noninvasive genetic studies of small cryptic mammals. European Journal of Wildlife Research, Springer Verlag, 57 (4): 991-995.

Uwagi formalne:

1. Dla większej przejrzystości terminy badań prowadzonych w terenie w poszczególnych sezonach powinny zostać zestawione w tabeli.
2. Rycina nr 3, która ilustruje kartę odłowów powinna znaleźć się w podrozdziale 3.3, a nie w części dotyczącej badań laboratoryjnych.

Metody badań laboratoryjnych:

Analizy parametrów fizjologicznych (pomiaru spoczynkowego tempa metabolizmu, pomiaru i określenia poziomu testosteronu) oraz molekularne Autorka zleciła do opracowania specjalistom. Nie zwalnia to jednak Doktorantki od dokładnego opisu metod pozyskiwania i analizy danych wykorzystywanych w badaniach. Precyzyjny opis metod badawczych pozwala między innymi powtórzyć procedury w celu ich sprawdzenia. Brak rzetelnych danych o metodach, źródłach, do których można sie odwołać nie daje takiej możliwości.

W przypadku pomiaru spoczynkowego tempa metabolizmu opis zawiera pełne informacje na temat zastosowanej metody poparte źródłami literaturowymi. Natomiast standardowe procedury zastosowane do pomiaru i określenia poziomu testosteronu nie zostały poparte żadnymi źródłami naukowymi. Mam nadzieję, że brak wskazania źródeł jest zwykłym niedopatrzeniem.

Opis metod genetycznych potwierdza tezę, że Autorka nie orientuje się zbyt dobrze w procedurach, które przedstawia w tym podrozdziale. Jest to zrozumiałe, bo nie jest genetykiem, jednak nie zadbała o to, aby je prawidłowo opisać. Myślę, że każdy genetyk zwróciłby uwagę na brak opisu w jaki sposób izolowano DNA, na brak danych o warunkach wykonywania analizy PCR, na brak informacji o liczbie i typie użytych markerów microsatelitarnych wraz z zastosowanymi procedurami i danymi przez kogo zostały one opisane. Opis nie pozwala na powtórzenie zastosowanych metod przez innych badaczy.

Metody badań behawioralnych zostały dokładnie opisane, poparte literaturą i udokumentowane zdjęciami. Nie wiem tylko na jakiej podstawie zostały wybrane do testów na określenie statusu socjalnego samców 4 oceniane kategorie zachowań. Czy Autorka wybrała je na podstawie przeprowadzenia pretestów, na podstawie których odrzuciła np. kategorię "postawy grożące", która występuje u gryzoni podczas interakcji międzyosobniczych zapobiegając bezpośrednim starciom, a która była wykorzystywana przy testowaniu dominacji samców w pracach, na które Doktorantka powołuje się w tekście? Czy eksperymenty były rejestrowane kamerą video?

Przy pomiarze profilu behawioralnego Autorka podaje kategorie zachowań wykorzystywane w teście "otwartego pola". Nie podaje jednak źródła, na którym oparła się przy wyborze typów zachowań. Myślę, że zasadnym byłoby skonstruowanie tabeli z wybranymi do testów kategoriami zachowań wraz z ich definicjami. Jest to zabieg często stosowany w badaniach behawioralnych. Tym bardziej, że w części dotyczącej wyników pracy Autorka stosuje skróty lub inne określenia niż podane w metodyce (patrz tabela 2 str. 56). Czym

różni się "stanie" od "stójki", jakie kryteria przyjmuje Autorka opisując kategorię "obserwacja otoczenia".

Analizy statystyczne:

Opis metod statystycznych jest bardzo skromny, co nie pozwala na ich rzetelną ocenę. Autorka wymienia jakie testy zastosowała w analizie, ale ponieważ nie postawiła żadnych hipotez lub pytań nie wiadomo, co było testowane jakim testem. W wynikach znajduje się analiza PCA (Analiza głównych składowych), o której Autorka nie wspomina przy opisie metod statystycznych. Nie wiemy również, jak były konstruowane modele użyte do testów. Rozumiem, że Doktorantka sama nie wykonywała tych analiz, ale ten fakt nie zwalnia jej z obowiązku rzetelnego ich przedstawienia.

1. Wyniki

Na 22 stronach Autorka prezentuje wyniki zestawiając je w 15 tabelach i na 12 rycinach. Dopiero w tym rozdziale dowiadujemy się przy prezentowaniu wyników analiz jaki rodzaj testu został zastosowany (GLM czy ANOVA). W tekście Autorka często stosuje stwierdzenie „analizy wykazały" (np. na str. 64, 66). Nasuwa się pytanie jakie analizy? To pytanie towarzyszy stale podczas czytania rozdziału "Wyniki". Ponadto nie wiadomo jakie zmienne zostały użyte w testach jako zmienne objaśniające? Czy występowały interakcje? Jaką strukturę błędu założyła Autorka? Ogólnie całość jest napisana bardzo chaotycznie i mało zrozumiale. Przy czytaniu towarzyszy wrażenie, że Autorka pisała ten rozdział w dużym pospiechu, który nie pozwolił jej na głębszą analizę i logiczne posegregowanie treści. Wyraźnie widoczny jest brak sformułowanych hipotez, do których odnosiłyby się poszczególne testy.

W tabeli 1. Autorka zestawia liczby odłowionych i wypuszczonych do wolier osobników oraz liczbę osobników użytych do testu otwartego pola i RMR-u. Wartości te nie zgadzają się z danymi wyszczególnionymi w tekście. Które z tych danych są poprawne?

Szczegółowe uwagi do wyników analiz statystycznych:

- Nie ma uzasadnienia pisanie wartości "p" do szóstego miejsca po przecinku.

- Przy podawaniu wartości statystyki F dla ANOVA albo GLM stopnie swobody powinny być wpisane indeksem dolnym.

- Autorka pisze, na str. 59, że ważną zmienną wyjaśniającą zmienność RMR jest czas czyszczenia (Tab. 5). Ten predyktor jest nieistotny statystycznie (0,07). Rozumiem, że

wartość p jest skrajna, więc nie do końca można ją bezwzględnie odrzucić na podstawie samego testu. Grafika przedstawiająca te analizy (ryc. 5) pokazuje brak zależności. Jest bardzo duży rozrzut w każdym kierunku a nachylenie prostej jest prawie zerowe.

- na stronie 62 pod tabelą 7 jest napisane "Analiza wykazała istotne różnice pomiędzy wynikiem konfrontacji, a pozycją socjalną samca (GLM, $F_{2,87}=311,54$; $p<0,000001$). Jakie zmienne zostały użyte w testach jako zmienne objaśniające? Czy występowały interakcje? Jaką strukturę błędu założyła Autorka?

- Na rycinie 7 (str. 63) dobrze byłoby uporządkować osobniki według ich statusu: D, S. P a nie według kolejność alfabetycznej, co nie ma uzasadnienia. Na rycinie 8 jest już prawidłowo.

- Wyniki w tabelach 4, 5, 8, 9, 10 są podane z błędami: w kolumnie drugiej jest "SE" (Standard Error), a w kolumnie trzeciej - "Błąd standardowy". Przypuszczalnie w kolumnie drugiej miała być umieszczona wartość beta z GLM (szacowana wielkość współczynnika). Teraz mamy dwa razy to samo, choć wartości są różne.

- Nie wiadomo w ogóle co analizowano za pomocą testu, którego wyniki zostały przedstawione w tabeli 10. Czy występowały interakcje? Jaką strukturę błędu założyła Autorka? Co właściwie było zmienną objaśnianą?

- Opis tabeli 11 sugeruje analizę prawdopodobieństwa. GLM powinien mieć wtedy binominalną strukturę błędu. Autorka nigdzie o tym nie wspomina i zapewne nie zostało to tak przeanalizowane. Wyniki GLM z dwumianowym rozkładem są testowane przy pomocy testu "z", tu jest "t".

- W tabeli 13, gdzie ponownie jest analiza prawdopodobieństwa jest już wynik wyrażony testem "z". Pojawia się pytanie, czy test 11 jest źle wykonany, czy źle opisany?

- Podobnie jest w tabeli 14. Tu jest test "t" - dla odmiany napisany z dużej litery. Tekst sugeruje, że zmienna objaśniana była binarna (migrował/nie migrował) czyli zapewne był model binominalny, a testowanie było statystyką "z". W którym miejscu więc jest błąd? Podobna sytuacja jest w tabeli 15.

Przy tylu wątpliwościach dotyczących wykonanych analiz nasuwa się pytanie o zasadność odnoszenia się do wyników, które Autorka uzyskała. Jestem przekonana, że po wyjaśnieniu powyższych wątpliwości można będzie podjąć dyskusję z Doktorantką i wskazać ewentualne uwagi.

2. Dyskusja

Na 6 stronach (str. 75-81) autorka przeprowadza dyskusje uzyskanych wyników. Czyta się ten rozdział z przyjemnością. Autorka dyskutując z wynikami badań wykazuje się dobrą znajomością problematyki, którą omawia i literatury przedmiotu oraz umiejętnością polemiki. Założyć tylko należy podobnie jak wyżej, że uzyskane wyniki pomimo błędów w opisie analiz statystycznych są poprawnie zinterpretowane.

3. Wnioski

W rozdziale tym sformułowano trzy krótkie wnioski, będące podsumowaniem analiz i dyskusji.

PODSUMOWANIE

Podsumowując stwierdzam, że wyniki badań, jakie złożyły się na rozprawę doktorską plasują się w nurcie istotnych i intensywnie dyskutowanych aktualnie zagadnień ekologii. Wniosą do tej debaty pewien wkład, zakładając, poprawność zastosowanych metod i analiz statystycznych. Szkoda, że w pracy nie zamieszczono materiałów źródłowych, które ułatwiłyby ocenę uzyskanych wyników. Eksperymenty przeprowadzone w środowisku naturalnym wymagały dużego zaangażowania w pracy terenowej. Ponieważ większość eksperymentów zaproponowanych przez Autorkę było przez innych badaczy testowanych w warunkach laboratoryjnych, badania przeprowadzone w środowisku naturalnym są mimo wielu trudności metodycznych bardzo cenne.

Jednak brak jasno sprecyzowanych hipotez badawczych (lub wyraźnie postawionych pytań badawczych) oraz precyzyjnie opisanych metod statystycznych testujących postawione hipotezy oraz bałagan w prezentowaniu wyników uważam za słabą stronę pracy. Przygotowanie wyników pracy do druku wymagało będzie od Autorki istotnej korekty zarówno merytorycznej jak i formalnej.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska napisana została poprawnym stylistycznie językiem. Pośpiech w jakim Autorka przygotowywała pracę spowodował błędy literowe, które są szczególnie liczne w końcowej części pracy. Usterki formalne zostały zaznaczone w dostarczonym do oceny maszynopisie rozprawy doktorskiej.

KONKLUZJA KOŃCOWA

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mimo podanych wyżej uwag krytycznych spełnia stawiane pracom doktorskim wymagania Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i wnoszę do Rady Wydziału Nauk o Zwierzętach Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie mgr Aleksandry Tadeusiak do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora nauk biologicznych w zakresie biologii.

Poznań, dnia 12 grudnia 2015 roku

dr hab. Joanna Ziomek