

Recenzja pracy doktorskiej mgr. Kamila Wiśniewskiego

Wpływ wybranych czynników biologicznych na rodzime i inwazyjne małże Unionidae

wykonanej na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych

Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

pod kierunkiem dr hab. Małgorzaty Poznańskiej-Kakareko, prof. UMK

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi zbiór trzech artykułów naukowych (dwóch opublikowanych i jednego w formie manuskryptu wysłanego do czasopisma), materiałów uzupełniających do każdej z publikacji oraz wstępu podsumowującego rozprawę. Prace poświęcone są oddziaływaniom między rodzimymi i obcymi w naszej faunie gatunkami małży, badanym na drodze interesujących eksperymentów przeprowadzonych w warunkach laboratoryjnych. Autor skupił się przy tym na czwórce gatunków z rodziny Unionidae: coraz rzadszej w naszym kraju i chronionej szczeżui wielkiej *Anodonta cygnaea*, nieco częstszych szczeżui pospolitej *Anodonta anatina* i skójce zaostrej *Unio tumidus* oraz obcym gatunku, szczeżui chińskiej *Sinanodonta woodiana*. Gatunki te mogą w seminaturalnych warunkach konkurować o siedlisko czy żywicieli, co jest wśród małży zjawiskiem niezłe udokumentowanym w literaturze naukowej. Nowym aspektem, który doktorant postanowił przeanalizować na tym układzie modelowym jest wpływ dodatkowych zmiennych biotycznych na poszczególne gatunki, który może finalnie wpłynąć na konkurencję między nimi. Tymi zmiennymi były obecność w podłożu muszli rodzimych i obcych małży, oblepianie przez małże z rodzaju *Dreissena* oraz obecność drapieżnika, raka *Pacifastacus leniusculus*. Co interesujące, oba organizmy wprowadzone do eksperymentów jako czynniki (tak racie jak i rak), są również gatunkami obcymi i inwazyjnymi. Nadaje to całemu układowi dodatkowego wymiaru: jak gatunki inwazyjne wpływają na konkurencję między obcymi a rodzimymi.

Tematyka biologii i ekologii gatunków inwazyjnych oraz ich oddziaływania na rodzime organizmy jest w dobie kryzysu bioróżnorodności bardzo ważna, co znajduje szerokie odzwierciedlenie w literaturze naukowej. Jest to temat tym bardziej istotny, kiedy mowa o oddziaływaniu na gatunki zagrożone, które pełnią w ekosystemach bardzo istotne funkcje – a do takich należą wszystkie europejskie Unionidae. W mojej ocenie badania opisane w recenzowanej rozprawie rzucają bardzo interesujące światło na te zagadnienia i są istotnym wkładem w nasze zrozumienie złożoności relacji między gatunkami obcymi i rodzimymi.

Merytoryczna ocena rozprawy

Rozprawa doktorska została przygotowana w pełnej zgodzie z art. 14 ust. 2 pkt 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz. U z 2017 r., poz. 1789) w związku z art. 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669).

Praca stanowi oryginalne podejście do wybranego problemu naukowego dotyczącego biologii słodkowodnych małży. Autor trafnie wybrał tu układ modelowy trzech gatunków z rodziny Unionidae, który pod tym kątem nie był wcześniej badany. Postawił interesujące hipotezy badawcze i zaprojektował testujące je eksperymenty, zebrał wyniki i przeanalizował je przy pomocy odpowiednich metod statystycznych. Jasno w ten sposób zademonstrował swoją ogólną wiedzę teoretyczną i praktyczną. We wszystkich pracach wchodzących w skład doktoratu jest pierwszym autorem i według załączonych oświadczeń oraz informacji zawartych w artykułach miał dominujący wkład w ich powstanie. W związku z tym praca spełnia warunki formalne cytowanej powyżej Ustawy dotyczące oryginalności, wiedzy teoretycznej oraz samodzielności.

Za najważniejsze merytoryczne aspekty pracy uważam i) wykazanie, że inwazyjna szczeżuja chińska *Sinanodonta woodiana* może mieć wpływ na populacje rodzimych małży poprzez tworzenie muszlowisk, które ograniczają ich lokomocję, ii) zademonstrowanie dużych różnic między gatunkiem obcym a rodzimym w reakcji na oblepienie przez inwazyjne racicznice, (iii) na przykładzie interakcji z rakiem sygnałowym wykazanie, że występowanie jednego gatunku inwazyjnego może ograniczać populację drugiego, sprzyjając w ten sposób gatunkom rodzimym.

Uwagi formalne i zagadnienia do wyjaśnienia

W skład rozprawy doktorskiej wchodzi dwa artykuły opublikowane w dość młodym, ale cieszącym się już dużym uznaniem czasopiśmie NeoBiota z wydawnictwa Pensoft oraz manuskryptu, który według oświadczenia autora znajduje się obecnie w recenzji w poważanym czasopiśmie Biological Invasions (Springer Nature). Dobór czasopism, w których publikowane są wyniki badań doktoranta jest więc bardzo odpowiedni, a ich poziom – wysoki, zwłaszcza mając na uwadze początkowe stadium jego kariery naukowej.

Pierwsza z prac (zatytułowana Dead or alive: the effect of shells and living individuals of *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) on habitat selection and behaviour of European unionid bivalves) jest poświęcona mechanicznemu oddziaływaniu inwazyjnego małża *Sinanodonta woodiana* (żywych osobników i ich muszli) na zachowanie dwóch rodzimych Unionidae – *Anodonta cygnea* i *Unio tumidus*. Przetestowano preferencje siedliskowe, lokomocję i zakopywanie, wykorzystując kontrolowane substraty z różnymi wariantami zanieczyszczenia przez obcy gatunek oraz muszle gatunków rodzimych. Oba gatunki wyraźnie unikały pustych muszli, a ich reakcje były wyraźnie zależne od ich pozycji. Zakopane muszle były przy tym częściej unikane niż te leżące na powierzchni, a żywe osobniki *S. woodiana* nie były unikane. Co interesujące, gatunki rodzime nie różnicowały między muszlami gatunku obcego i rodzimych Unionidae, natomiast szczeżuja chińska unikała muszli własnego gatunku. W eksperymentach behawioralnych *A. cygnea* wykazywała spowolnienie lokomocji i redukcję poziomu zakopywania w obecności muszli oraz żywych osobników gatunku inwazyjnego. *U. tumidus* reagowała odmiennie: zwiększała dystans i czas lokomocji, a jednocześnie zmniejszała stopień zakopywania.

Eksperymenty przeprowadzone w pierwszej pracy były bardzo rozbudowane i wieloelementowe. Wymagały od autora zarówno starannego zaprojektowania jak i sporego wysiłku logistycznego, na pewno nie były też szybkie w przygotowaniu i przeprowadzeniu.

Od strony metodycznej nie budzą moich zastrzeżeń, a analizy statystyczne i interpretacja wyników są moim zdaniem również właściwe. Wyniki wskazują, że *S. woodiana* silnie modyfikuje mikrohabitaty bentosowe poprzez tworzenie rozległych muszlowisk. Ogranicza w ten sposób dostępność odpowiednich warunków dla rodzimych Unionidae i potencjalnie może zwiększać ich podatność na stres środowiskowy oraz drapieżnictwo. Jak już wspomniałem, jest to według mnie bardzo interesujący wynik, zwracający uwagę na niedostatecznie do tej pory rozpoznaną stronę oddziaływania obcych małży na rodzimą faunę bentosową.

Druga z prac wchodzących w skład rozprawy (Native and non-native unionids respond differently to the presence of fouling dreissenid mussels) przedstawia wyniki badań, przeprowadzonych we współpracy międzynarodowej z węgierskim Balaton Limnological Institute. Ich celem było określenie i porównanie wpływu porostania rodzimej skójki zaostrej (*U. tumidus*) oraz inwazyjnej szczeżui chińskiej (*S. woodiana*) przez inwazyjne małże z rodziny Dreissenidae (racicznice *Dreissena polymorpha* i *Dreissena rostriformis bugensis*). Przeanalizowano też wpływ sygnałów chemicznych emitowanych przez racicznice na reakcje behawioralne dwóch wspomnianych gatunków Unionidae.

Doświadczenia laboratoryjne przeprowadzono na osobnikach pozyskanych ze stanowiska w jeziorze Balaton, gdzie współwystępują wszystkie cztery gatunki. Metodyka obejmowała dwa niezależne eksperymenty badające czas inicjacji ruchu, dystans lokomocji oraz stopień zakopywania się w piaszczystym podłożu. Pierwszy z eksperymentów oceniał bezpośredni wpływ obciążenia raciczniami oraz czas utrzymywania się zaburzeń behawioralnych po oczyszczeniu muszli (co pozwalało na odróżnienie czysto mechanicznego oporu od spadku kondycji fizjologicznej gospodarza). Eksperyment drugi weryfikował natomiast zdolność wykrywania przez Unionidae rozpuszczonych w wodzie sygnałów chemicznych uwalnianych przez racicznice.

Wyniki wykazały odmienne wzorce odpowiedzi behawioralnej u obu analizowanych gatunków Unionidae. Inwazyjny *S. woodiana* nie wykazał istotnych zmian w czasie inicjacji ruchu ani w parametrach lokomocji pod wpływem porostania przez racicznice, zakopywał się jednak znacząco głębiej w obecności sygnałów chemicznych *D. r. bugensis*. Odmienne zareagował rodzimy *U. tumidus*, u którego obciążenie porostem racicznic wydłużyło czas rozpoczęcia ruchu oraz drastycznie ograniczyło głębokość zakopywania, co utrzymywało się również po ich usunięciu.

Zróznicowanie odpowiedzi behawioralnych wskazuje, że obecność inwazyjnych racicznic wywołuje znacznie silniejsze skutki dla populacji rodzimej *U. tumidus* niż u inwazyjnej *S. woodiana*. Ograniczenie zdolności zakopywania i lokomocji u skójek może zwiększać ich wrażliwość na drapieżnictwo, presję pasożytniczą czy wtórne, zintensyfikowane obrastanie przez racicznice. Z kolei u *S. woodiana* zachowania obronne w postaci głębszego zakopywania mogą skutecznie redukować stopień obrośnięcia muszli, a obrastanie przez racicznice nie wpływa znacząco na poziomą lokomocję. Takie różnice w oddziaływaniu inwazyjnych racicznic na konkurującą ze sobą parę Unionidae będą najprawdopodobniej znacząco wpływać na wynik tej konkurencji, przechylając szalę zwycięstwa w stronę szczeżui chińskiej.

Podobnie jak w przypadku pierwszej pracy, zarówno sposób zaprojektowania eksperymentów, jak i analiza oraz interpretacja danych nie budzą moich większych zastrzeżeń. Wielkość próby była odpowiednia, doświadczenia uwzględniły różnorodne aspekty potencjalnego wpływu

racicznic na Unionidae, a autorzy wzięli pod uwagę potencjalne różnice między dwoma gatunkami *Dreissena* występującymi w jeziorze Balaton. W przypadku eksperymentu, w którym usuwano muszle racicznic z małży mam niewielkie wątpliwości metodyczne: czy możemy mieć pewność, że efekt obserwowany po usunięciu *Dreissena* wynikał z faktu, że się one wcześniej znajdowały na muszlach gospodarzy? Wydaje mi się, że mogłaby to być też reakcja na działania badacza podczas oskrobywania skójek z porostu racicznic (zapewne w pewnym stopniu traumatyczne dla małży). Prawdopodobieństwo, że to drugie wyjaśnienie jest właściwe jest oczywiście znacznie mniejsze niż to proponowane przez autorów, moim zdaniem nie możemy go z absolutną pewnością wykluczyć. Żeby odróżnić te dwa potencjalne rezultaty należałoby moim zdaniem w możliwie zbliżony sposób potraktować skójki i szczeżuje z grupy kontrolnej (oznaczonej jako C) – wyciągając z wody i przez podobny czas manipulując nimi, jak tymi z grupy F/C1 i F/C2.

Trzecia z prac (Invasive signal crayfish differently affects invasive and native unionid mussels), oparta jest na zbliżonych założeniach eksperymentalnych, co dwie pozostałe. Zbadane zostały pozioma lokomocja małży oraz ich stopień zagrzebywania się w osadach dennych w odpowiedzi na stresor oraz jego sygnał chemiczny. W tym przypadku badanymi gatunkami Unionidae były *A. anatina*, *U. tumidus* oraz *S. woodiana*, natomiast analizowanym czynnikiem była obecność raka sygnałowego *P. lenisculus*, w skład którego diety wchodzi m.in. skójkowate. Pozwoliło to poszerzyć tematykę badań również o sprawdzenie różnic w reakcji drapieżnika na dostępność ofiar z poszczególnych gatunków.

Bezpośredni kontakt z drapieżnikiem opóźniał inicjowanie aktywności u wszystkich badanych gatunków małży, szczególnie skójki gruboskorupowej. U tego gatunku odnotowano także wyraźną redukcję głębokości zagrzebania w osadach w odpowiedzi na obecność drapieżnika oraz jego sygnałów chemicznych, podczas gdy pozostałe gatunki Unionidae nie wykazywały takiej reakcji. *U. tumidus* była też najrzadziej atakowana przez raka. Autorzy wnioskują, że ograniczenie lokomocji poziomej i pionowej oraz niższe ryzyko ataku wynikają z obronnej strategii tego gatunku. Polega ona na szybkim zamknięciu grubej muszli i minimalizacji aktywności w sytuacji zagrożenia.

Najczęściej atakowanym gatunkiem Unionidae okazała się być inwazyjna szczeżuja chińska. Wykazywała ona również najłabszą odpowiedź behawioralną na obecność drapieżnika i jego śladów chemicznych. Obecność raka sygnałowego w siedliskach Unionidae może więc działać odwrotnie niż presja ze strony racicznicy: w mniejszym stopniu wpływać negatywnie na gatunki rodzime niż na gatunek obcy. Tym samym może sprzyjać przewadze gatunków rodzimych w konkurencyjnych układach międzygatunkowych.

Praca dotycząca drapieżnictwa moim zdaniem odbiega nieco poziomem od dwóch pozostałych, najprawdopodobniej z racji tego, że jest to nieopublikowany jeszcze manuskrypt. W paru miejscach da się znaleźć mniejsze i większe niedociągnięcia i niekonsekwencje, co do których uwagi przedstawiam poniżej. Całość manuskryptu jest jednak spójna i w mojej opinii przedstawia dobrze zaprojektowany i przeprowadzony eksperyment, a bardziej istotne uwagi da się zamknąć w trzech punktach.

Po pierwsze, w układach eksperymentalnych opisanych w pracy badano reakcję małży umieszczając je w akwarium, w którym znajdował się drapieżnik. W naturze sytuacja wygląda odwrotnie: to drapieżnik, który jest bardziej aktywny i mobilny pojawia się nagle w miejscu zajmowanym wcześniej przez małże. Wobec tego, w warunkach eksperymentu ofiara

niezaaklimatyzowana do nowych warunków i zszokowana nagłymi przenosinami mogła się zachowywać inaczej niż w naturze, co mogło mieć wpływ na wyniki.

Druga moja uwaga dotyczy zastosowanych w pracy miar opisujących reakcję ofiary. Z jednej strony, w wynikach eksperymentu brakuje mi jakiejś prostej miary aktywności, dzięki której można by rozróżnić, czy i na ile małże reagują na drapieżnika zwiększeniem ruchliwości, a na ile pasywną ochroną w postaci zamknięcia muszli (jak było to w przypadku skójki). Taką miarą mógłby być na przykład czas, przez który muszla była zamknięta lub czas pozostawania w bezruchu. Z drugiej strony, sugerowałbym też, by autor zastanowił się nad sposobem pomiaru głębokości zagrzebania małży w osadach dennych. Obecna miara daje wartości względne, opisujące na ile małż jest zakopany. Może ona mieć duże znaczenie dla opisu sytuacji od strony reakcji małża na czynniki środowiskowe, tak jak w eksperymentach z prac 1 i 2, gdzie ta miara została słusznie zastosowana. W trzeciej publikacji ważniejszy jest jednak moim zdaniem obraz od strony drapieżnika: na jakiej bezwzględnej głębokości małż się znajduje, a więc na ile trudno będzie go odkopać. Myślę, że w przypadku ofiar o różnej wielkości muszli właściwsze byłoby więc tutaj zastosowanie wartości bezwzględnych (np. głębokości w centymetrach mierzonej od szczytu muszli, a nie w procentach).

W pracy zabrakło mi też analizy pokazującej, na ile głębokość zakopania małża wpływała na prawdopodobieństwo ataku przez drapieżnika. Z treści pracy dowiadujemy się, że zależność taka była obserwowana (linie 263-265), twierdzenia tego nie podparto jednak wynikami analiz statystycznych. Takie wyniki dopełniłyby cały obraz interakcji między drapieżnikiem a ofiarą opisywany w pracy i równocześnie, w elegancki sposób, nawiązały do rezultatów eksperymentów opisanych w pracach 1 i 2.

Uwagi redakcyjne

Linia 104: „reduced burrowing as a consequence of the total activity reduction, decreasing the probability of detection by a predator” – wydaje mi się, odkopane małże są raczej bardziej narażone na prawdopodobieństwo wykrycia przez drapieżnika.

Tab. 1 i tab. 2, opis fig. 1: brakuje informacji na temat wielkości próby (n).

Linie 146-147: w przypadku ilości wody i piasku warto podać dodatkowo objętość w litrach lub cm^3 . W obecnej treści pracy mamy tu centymetry, które są liniową miarą głębokości/miąższości – warto to zaznaczyć w tekście.

Linie 241-242: “always below 10% of the total experimental time” – wykres pokazuje coś innego, sporo jest tam wartości przekraczających 10%.

Linia 246: „No significant effects of crayfish presence were observed” – to zdanie może być mylące, warto podkreślić, że odnosi się tylko do wpływu obecności raka na przebyłą odległość.

Linia 302: „*U. tumidus* reduced is burrowing activity in the presence of a potential predator” – w liniach 241-243 czytamy, że czas poświęcony zakopywaniu się był u wszystkich gatunków dłuższy w obecności drapieżnika – a więc aktywność była wtedy większa.

Linie 319-321: Drapieżnik chyba nie mógł wiedzieć, że skójka ma twardą muszlę, dopóki jej nie odkopał. Może mamy tu do czynienia z jakimś mechanizmem odstraszenia/zniechęcania drapieżnika przez skójki, np. na drodze chemicznej?

Linie 328-329: „more difficult detection due to fast and deep burrowing” – eksperymenty wykazały coś przeciwnego: w obecności drapieżnika skójką rozpoczynała swoją aktywność z największym opóźnieniem i zakopywała się znacząco płycej, niż w kontroli.

Najślabszą w moim odczuciu częścią recenzowanej rozprawy doktorskiej jest jej wstęp. Sporo jest tutaj usterek stylistycznych i drobnych niekonsekwencji. Może to wywoływać wrażenie, że ten rozdział został napisany w nadmiernym pośpiechu (a powinien być ważną częścią pracy, podsumowującą i rekapitulującą jej całość). Zdania są tu w mojej opinii często zbyt długie i złożone, a z drugiej strony pojawiają się w nich utrudniające nieco odbiór skróty myślowe. Hipotezy zestawione w tym rozdziale nie do końca odzwierciedlają wymienione w nim wcześniej cele: brak jest na przykład jakiejkolwiek hipotezy związanej z porównaniem behawioru gatunków obcych i rodzimych. Hipoteza 1 z pracy 1 częściowo powieliła hipotezę 2, a hipoteza 1 w pracy 3 zawiera w sobie równocześnie hipotezę alternatywną, co uniemożliwia jej falsyfikację („małże w obecności drapieżnika będą się zagrzebywać głębiej lub nie”).

Muszę też zwrócić uwagę na nieprecyzyjne cytowanie artykułów naukowych, które jest zauważalne we wstępie. Na przykład autor pisząc o żerowaniu raków na małżach cytuje pracę dotyczącą drapieżnictwa ze strony ślimaków, a atlas rozmieszczenia raków cytuje by podeprzeć tezę, że rak sygnałowy jest wyjątkowo agresywny i odważny. Praca Saloom i Duncan 2005 jest w nieodpowiedni sposób cytowana dwukrotnie (na str. 23): autorzy tej pracy nie wykazali, że *S. woodiana* i jej muszle zaburzają naturalny mechanizm obronny małży; nie sprawdzali też, czy poroślowe małże narażają ich gospodarzy na ataki drapieżników lub niekorzystne czynniki środowiska. W paru miejscach pojawiają się też odniesienia do prac przeglądowych zamiast do oryginalnych artykułów opisujących wyniki badań. Prace Burlakova i in. 2000 oraz Poznańska-Kakareko 2021 nie zostały wymienione w spisie literatury, a artykuły Bodis et al. 2014a i Bodis et al. 2014b zostały wymienione tam w odwrotnej kolejności. Muszę podkreślić, że te błędy znajdują się jedynie we wstępie, artykuły wchodzące w skład rozprawy cytują literaturę we właściwy sposób.

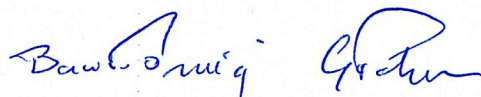
Z drobnych wpadek językowych chciałbym zwrócić uwagę autora na zdanie: „*D. bugensis* jest stosunkowo nowym gatunkiem w faunie Europy”. Ten gatunek pochodzi z europejskiej zlewni morza Czarnego (m.in. Dniepr), zawsze był więc elementem europejskiej fauny. Zastanawia mnie też, czy o bisiorku można powiedzieć, że jest szybkooschnący, skoro znajduje się zawsze w wodzie? Warto też pamiętać, że w pracach naukowych słowa „ilość” używamy w odniesieniu do rzeczowników niepoliczalnych – powinniśmy więc mówić o liczbie, a nie ilości ataków (str. 22).

Wymienione wyżej usterki – zarówno formalne jak i redakcyjne – wynikają raczej z przecoczenia Autora podczas pisania pracy i będą bardzo łatwe do usunięcia na etapie przygotowywania do publikacji tej części rozprawy, która nie została jeszcze opublikowana. W moich oczach nie wpływają one znacząco na wartość recenzowanej pracy, którą oceniam wysoko.

Wniosek końcowy

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona przez mgr. Kamila Wiśniewskiego rozprawa doktorska pod tytułem „Wpływ wybranych czynników biologicznych na rodzime i inwazyjne małże Unionidae” jest oryginalną pracą dotyczącą ważnych aspektów biologii małży jak i ekologii inwazji gatunków obcych, a przez to stanowi znaczący wkład w rozwój nauk biologicznych. Rozprawa w pełni spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim przez obowiązujące w Polsce prawo dotyczące stopni i tytułów naukowych. W związku z tym, wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr. Kamila Wiśniewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę zakres i temat badań, a przede wszystkim wysoką jakość publikacji i znaczenie dla wiedzy wyników opisanych w rozprawie, wnoszę też o jej wyróżnienie.



dr hab. Bartłomiej Gołdyn, prof. UAM