

Dr hab. Urszula Janas prof. UG
Katedra Ekologii Morza
Wydział Oceanografii i Geografii
Uniwersytet Gdański
Al. Marsz. J. Piłsudskiego 46
81-378 Gdynia

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr Krzysztofa Podwysockiego pt. „Assesment of the invasion potential of two genetically distinct populations of the Ponto-Caspian amphipod *Dikerogammarus villosus* / Ocena potencjału inwazyjnego dwóch genetycznie zróżnicowanych populacji pontokaspijskiego obunoga - *Dikerogammarus villosus*” zrealizowanej w Katedrze Zoologii Bezkręgowców i Hydrobiologii, Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem promotor prof. Dr. Hab. Karoliny Bącela-Spychalskiej oraz promotora pomocniczego dr Tomasza Rewicza.

Recenzję pracy doktorskiej wykonałam w odpowiedzi na pismo Przewodniczącej Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne prof. dr hab. Agnieszki Marczak, z dnia 8 października 2024 r.

Praca składa się ze streszczenia w języku angielskim i polskim, listy publikacji i manuskryptów wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, wstępu do pracy wraz z celami, omówienia publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, krótkiej dyskusji, wniosków, bibliografii oraz dwóch opublikowanych artykułów naukowych i dwóch manuskryptów złożonych do czasopism wraz z materiałami dodatkowymi (tj. szczegółami przeprowadzonych badań laboratoryjnych i eksperymentów oraz analiz statystycznych). Do każdego artykułu i manuskryptu dołączono oświadczenia wszystkich autorów prac z których wynika, że mgr Krzysztof Podwysocki miał znaczący wkład w ich autorstwie. We wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym autorem, a w trzech autorem korespondencyjnym. Brał udział we wszystkich etapach pracy nad manuskryptami publikacji (tj. od udziału w opracowaniu koncepcji prac i ich metodyki, poprzez badania terenowe i laboratoryjne, zaplanowanie i przeprowadzenie analiz statystycznych, aż po pracę nad manuskryptami na wszystkich jej etapach).

Głównym celem rozprawy doktorskiej było wykazanie wewnątrzgatunkowej zmienności potencjału inwazyjnego pontokaspijskiego obunoga *D. villosus* w ekosystemach słodkowodnych.

Inwazyjne gatunki obce stanowią jedno z największych zagrożeń dla różnorodności biologicznej. Dotyczy to szczególnie ekosystemów wodnych, w których wykazano m. in. negatywny wpływ gatunków obcych na gatunki rodzime czy ich siedliska, a w konsekwencji funkcjonowanie ekosystemów. Gatunki obce pojawiające się w środowisku wodnym są bardzo trudne, a może nawet niemożliwe do usunięcia. Dlatego tak ważne jest poznanie ich biologii i ekologii, aby móc skutecznie zapobiegać kolejnym introdukcjom, czy przeciwdziałać rozprzestrzenianiu się gatunków. Nasza wiedza na temat wpływu nowych gatunków na gatunki rodzime i ekosystemy jest nadal ograniczona, a przedstawiona do recenzji praca wpisuje się w aktualny nurt takich badań.

Jednym z głównych źródeł gatunków obcych, rozprzestrzeniających się w europejskich ekosystemach słodkowodnych, jest rejon pontokaspijski, a przyczyną budowa kanałów tworzących korytarze migracyjne. Pomiędzy rzekami i jeziorami gatunki obce transportowane są między innymi przez: jednostki pływające, rybaków, wędkarzy, a nawet płetwonurków. Stale rozwijająca się żegluga śródlądowa oraz turystyka będą powodowały wzrost tego negatywnego zjawiska. Doktorant podjął więc w swoich badaniach ważny temat, który pomoże w zrozumieniu możliwości rozprzestrzeniania się i wpływu gatunków inwazyjnych na ekosystemy wodne.

Mgr Krzysztof Podwysocki wybrał do badań inwazyjnego pontokaspijskiego obunoga *D. villosus*, który rozprzestrzenił się w europejskich wodach z dwóch geograficznie i genetycznie odrębnych populacji. Pochodzące z rejonu delty Dunaju osobniki rozszerzają swój zasięg w zachodniej części Europy tworząc Grupę Zachodnią, natomiast osobniki z delty Dniepru rozprzestrzeniają się w części wschodniej tworząc Grupę Wschodnią. Doktorant, żeby osiągnąć cel postawiony w rozprawie doktorskiej, przeprowadził szereg różnorodnych badań i wykazał się znajomością wielu technik badawczych. Były to zarówno badania terenowe, analiza rozmieszczenia przedstawicieli Gammaroidea, jak i badania morfologiczne wybranego gatunku oraz eksperymenty laboratoryjne wymagające wykorzystania jeszcze innego warsztatu badawczego. Na uwagę zasługuje zadbanie o czystość sprzętu do badań środowiskowych, pomiędzy poborem prób w różnych zbiornikach, w celu zmniejszenia ryzyka przeniesienia gatunków obcych.

Doktorant, dysponując dużą bazą wyników swoich badań, wykonał różnorodne analizy statystyczne umożliwiające wyciągnięcie interesujących wniosków. Użył między innymi: analizę głównych składowych (PCA), permutacyjną wielowymiarową analizę wariancji (PERMANOVA) oraz uogólniony liniowy model mieszany (GLMM). Szczególnie interesujące było dla mnie zastosowanie analizy PCA do analiz cech morfologicznych badanego gatunku, czy wykorzystanie GLMM w analizie danych z eksperymentów. W rozprawie doktorskiej zwraca uwagę rzetelna dokumentacja badań w postaci kart pracy oraz szczegółowych wyników analiz statystycznych zamieszczonych na końcu poszczególnych prac.

Artykuł 1 "Recent invasion of Ponto-Caspian amphipods in the Masurian Lakeland associated with leisure activities, 2024, NeoBiota. Celem badań zawartych w pierwszej pracy było określenie rozmieszczenia gatunków należących do Gammaroidea na Pojezierzu Mazurskim na tle biotycznych i abiotycznych parametrów środowiskowych, ze szczególnym uwzględnieniem antropopresji. Postawiono hipotezę, że duży ruch turystyczny przyczynia się do rozprzestrzeniania się inwazyjnych obunogów, podczas gdy obecność rodzimych gatunków należących do tego rzędu ogranicza się do jezior odizolowanych. W badaniach wykorzystano zarówno dane historyczne z okresu od 2001 do 2007 r., nowe nieopublikowane dane pochodzące z badań prowadzonych w latach: 2008 i 2009 r., jak i szczegółowe badania przeprowadzone w latach 2014 i 2016. Przeprowadzone badania wykazały, że wysoka aktywność turystyczna na Pojezierzu Mazurskim, zwłaszcza żeglarstwo sprzyjają rozprzestrzenianiu się *D. villosus*, a szybki wzrost liczebności oraz zasięgu występowania tego gatunku ma negatywny wpływ zarówno na rodzime jak i obce gatunki obunogów.

Artykuł 2 „Environment, intraspecific lineages and geographic range jointly shape the high morphological variability of *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894) (Crustacea, Amphipoda): a successful aquatic invader across Europe”, 2024, Hydrobiologia. W pracy podjęto badania dotyczące zmienności morfologicznej osobników o różnym pochodzeniu, zamieszkujących różne typy zbiorników wodnych (tj. słodkowodne rzeki i jeziora oraz wody słonawe) oraz obszary rodzime i nierodzące. Materiał badawczy został zebrany w okresie od 2009 do 2023 r. na 35 stacjach badawczych rozmieszczonych w zachodniej i wschodniej części Europy. Badania przeprowadzono na 339 samcach *D. villosus* u których Doktorant wykonał analizy 4 cech biologicznych/funkcjonalnych (tj. poruszanie się, odbieranie bodźców ze środowiska, przetwarzanie i trawienie pokarmu oraz chwytanie i przenoszenie pokarmu) w których wydzielono w sumie 29 kategorii. W artykule zastosowano ciekawe i nowoczesne analizy statystyczne za pomocą których stwierdzono dużą zmienność morfologiczną *D. villosus*, szczególnie na obszarach nowo zasiedlonych. Doktorant wykazał między innymi, że osobniki należących do Grupy Wschodniej posiadają cechy morfologiczne wskazujące na ich roślinożerność, natomiast u osobników z Grupy Zachodniej stwierdził zwiększenie zdolności drapieżnych.

Manuskrypt 3 „Predation and omnivory - two different feeding patterns displayed by two interspecific lineages of the invasive Ponto-Caspian amphipod - *Dikerogammarus villosus*”, w recenzji w czasopiśmie Freshwater Biology. Celem badań eksperymentalnych zawartych w pracy było wykazanie różnic w preferencjach żywieniowych oraz ilości pobieranego pokarmu pomiędzy osobnikami *D. villosus* z dwóch populacji zasiedlających polskie rzeki. Do eksperymentów laboratoryjnych skorupiaki zbierane były co 2 miesiące, w okresie od marca do listopada, w latach 2021 i 2022. Żywe zwierzęta przewożono i umieszczano w pojemnikach w stałej temperaturze 19 °C. Po aklimatyzacji skorupiaków Doktorant wykonał 24 godzinne eksperymenty, w których wykorzystał trzy rodzaje pokarmu (tj. liście wierzby, tkankę mięśniową karpia oraz żywe larwy Chironomidae). Pokarm był podawany na dwa

sposoby: osobno - w badaniach tempa konsumpcji oraz łącznie - w eksperymencie dotyczącym preferencji pokarmowych. Badania wykazały, że osobniki należące do Grupy Zachodniej konsumowały więcej pokarmu zwierzęcego, a mniej pokarmu roślinnego niż te z Grupy Wschodniej. Doktorant stwierdził możliwość większej presji drapieżniczej osobników z Grupy Zachodniej i ich większy wpływ na zespoły bentosowe. Natomiast osobniki z Grupy Wschodniej cechowała duża plastyczność pod względem wykorzystywania zasobów pokarmowych, co może przyczynić się do większej ekspansji tej populacji w nowych środowiskach.

Manuskrypt 4. „Dispersal potential of freshwater invasive amphipods is population-dependent: A case study *Dikerogammarus villosus*”, w recenzji w Animal Behaviour. Celem przeprowadzonych badań było stwierdzenie czy osobniki *D. villosus* pochodzące z dwóch różnych populacji źródłowych, a nawet dwóch blisko położonych rejonów w obrębie jednej grupy, różnią się pod względem aktywności lokomotorycznej i czy obecność jednej grupy może mieć wpływ na aktywność drugiej. Żywe skorupiaki *D. villosus* do eksperymentów zostały zebrane w sierpniu 2021 r., przewiezione do laboratorium i poddane aklimatyzacji. Następnie Doktorant wykonał obserwacje zachowania obunogów, w tym wypadku samic i samców. Doktorant wykazał, że osobniki należące do Grupy Wschodniej bardziej eksplorują nowe miejsca i skuteczniej konkurują o siedliska, powodując większe rozprzestrzenianie się osobników z Grupy Zachodniej. Zauważył również różnice pomiędzy osobnikami z tej samej grupy zasiedlających różne rejony.

Chciałabym podkreślić, że eksperymenty laboratoryjne prowadzone na żywych zwierzętach stanowią duże wyzwanie. Przed i w trakcie trwania eksperymentów trzeba podjąć szereg decyzji, które wpływają na uzyskane wyniki. Dlatego też pytania, które pojawiły się w trakcie czytania rozprawy doktorskiej dotyczyły głównie tej części pracy. Warto zaznaczyć, że w przeprowadzonych eksperymentach Doktorant właściwie wykorzystał zwierzęta trzymane przez 24 godziny w osobnych pojemnikach, z zapewnioną kryjówką i bez dostępu do jedzenia. Taki zabieg zapobiegł kanibalizmowi oraz zmniejszył stres w trakcie aklimatyzacji. Doktorant również poprawnie zastosował dodatkową kontrolę, która pozwoliła na analizę ubytku pokarmu podczas trwania doświadczenia, bez obecności obunogów.

Pytania

- W manuskrypcie 3 w materiałach i metodach na str. 147 jest informacja o stałej temperaturze panującej w laboratorium 19 °C, natomiast nie znalazłam informacji dotyczącej temperatur w jakich prowadzono eksperymenty. Czy dobrze rozumiem, że w takiej temperaturze, niezależnie od sezonu, przeprowadzono eksperymenty? Jeśli tak to dlaczego Doktorant zdecydował się na stałą temperaturę w prowadzonych eksperymentach? Czy przeprowadzanie eksperymentów w temperaturach typowych dla sezonów miałoby wpływ na wyniki badań i jeśli tak to w jaki sposób?

- Dlaczego eksperymenty opisane w manuskrypcie 3 i 4 przeprowadzono w wodzie o pH 9, jeśli w wodzie rzecznej średnie pH wyniosło ok. 7,40 i nigdzie nie przekraczało 8,59? Czy zmiana pH zastosowana podczas eksperymentów mogła mieć wpływ na tempo odżywiania skorupiaków lub ich zachowanie?
- Zaskakujące są wyniki ilości konsumowanego pokarmu (tj. larw Chironomidae rys. 2D oraz pokarmu mieszanego rys. 3B, str. 154, 156) przez osobniki *D. villosus* należące do Grupy Wschodniej. Proszę o wyjaśnienie z czego wynika brak wzrostu tempa konsumpcji wraz ze wzrostem masy ciała osobników pochodzących z Grupy Wschodniej.
- Jeżeli eksperymenty laboratoryjne, dotyczące konsumpcji pokarmu, były wykonywane w temperaturze 19 °C, kiedy temperatura wody w rzekach była poniżej 10 °C (marzec i listopad), to znacznie niższe wartości tempa konsumpcji larw Chironomidae zasługują na komentarz. Czy *D. villosus* charakteryzuje się wysoką tolerancją na wysokie, niskie temperatury oraz zmiany temperatury w środowisku? Czy są różnice pomiędzy osobnikami z Grupy Wschodniej i Grupy Zachodniej?
- Na stronie 151 znajduje się informacja, że w danych wykorzystanych do analizach preferencji pokarmowych zostały usunięte przypadki osobników nie konsumujących żadnego pokarmu i to jest właściwe podejście. Jednak moje wątpliwości budzą wiersze zaznaczenie na żółto w tabeli 3 (strony 207-234). Wskazują one na usunięcie nie tylko takich przypadków, ale również części wyników dotyczących osobników, które w tych eksperymentach nie jadły jednego spośród trzech podanych pokarmów (m. in. przypadek dwóch osobników ze str. 207, zaznaczone na żółto, gdzie usunięto z analiz wyniki braku konsumpcji liści, pozostawiając wyniki konsumpcji pozostałych pokarmów). Dlaczego takie usunięcie, jedynie części wyników, Doktorant uznał za właściwe? Jaki to miało wpływ na wyniki analiz preferencji pokarmowych?
- Wyniki badań zamieszczonych w manuskrypcie 4 wskazują na różnice w przemieszczaniu się pomiędzy osobnikami zasiedlającymi bardzo blisko położone obszary w obu badanych rzekach. Jakie czynniki mogą mieć wpływ na pojawienie się zaobserwowanych różnic?
- Czy wiadomo jak szybko osobniki z Grupy Wschodniej i z Grupy Zachodniej przemieszczały i przemieszczają się wzdłuż rzek i zasiedlają nowe obszary?
- Czy znane są różnice pomiędzy osobnikami z Grupy Wschodniej i Grupy Zachodniej, inne niż te przedstawione w rozprawie doktorskiej, które mają i będą miały wpływ na rozprzestrzenianie się osobników z obu grup w ekosystemach słodko- i słonawowodnych?

Uwagi

- W manuskrypcie 3 warto dodać informacje jak przebiegała i jak długo trwała aklimacja do temperatury przed rozpoczęciem eksperymentów.

- W manuskrypcie 3 konsumpcję pokarmu podano w gramach – wzór na stronie 151 oraz rysunki 2 D i 3 B - podczas gdy jednostką używaną dla wyrażenia tempa konsumpcji jest g pokarmu / osobnika / 24 h lub gram pokarmu / g (mokrej lub suchej) masy ciała / 24 h. Warto tak przedstawić dane w przyszłej publikacji.
- W manuskrypcie 4 (opis eksperymentu strona 6 i Supplementary table 2) informacje dotyczące pomiarów prędkości poruszania się skorupiaków warto rozszerzyć o liczbę osobników użytych w badaniach, w poszczególnych wariantach eksperymentu. Czy w tabeli (Supplementary table 2, ostatnia kolumna), została podana średnia z kilku pomiarów czy też jeden pomiar? W tabeli tej zaskakuje wynik w ostatnim wierszu – prędkość 29,73 cm/s, podczas gdy dla większości wariantów prędkość osobników była poniżej 10 cm/s.

Podsumowanie

Uważam, że rozprawa doktorska Pana mgr Krzysztofa Podwysockiego zawiera bardzo spójny i cenny materiał badawczy oraz ma dużą wartość poznawczą. Wyniki rozprawy doktorskiej wnoszą nową wiedzę dotyczącą istnienia dużej wewnątrzgatunkowej zmienności potencjału inwazyjnego skorupiaką *D. villosus*. W szczególności cenne są kompleksowe badania cech funkcjonalnych badanego gatunku uzupełnione badaniami eksperymentalnymi, potwierdzającymi obserwacje przeprowadzone w środowisku. Dodatkowo, wyniki badań przedstawione w rozprawie doktorskiej mogą pomóc w przewidywaniu kierunku i skutków rozprzestrzeniania się tego gatunku i co ważne, podkreślają potrzebę badań dotyczących inwazyjności na poziomie populacji.

Wniosek o wyróżnienie

Ze względu na wkład w wiedzę o inwazyjności gatunków, wysoką jakość opublikowanych prac stanowiących część rozprawy doktorskiej oraz konsekwencję w poszukiwaniu odpowiedzi na postawiony cel wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej Pana mgr Krzysztofa Podwysockiego.

Szczegółowe uzasadnienie

- Doktorant przedstawił bardzo spójną tematycznie rozprawę doktorską łącząc badania środowiskowe z badaniami eksperymentalnymi. Umiejętnie wykorzystał wyniki badań wieloletnich oraz badań prowadzonych na dużym obszarze (tj. ekosystemy słodkowodne i słonawowodne Europy). Zaplanował i przeprowadził eksperymenty laboratoryjne, które w dużym stopniu potwierdziły wyniki wcześniej przeprowadzonych badań morfologicznych skorupiaką *D. villosus*.
- Doktorant wykorzystał w swojej pracy cechy morfologiczne badanego skorupiaką *D. villosus*, umiejętnie łącząc je funkcjami gatunku w ekosystemie. Uwzględnione w pracy zagadnienia wpisują się w aktualny trend i potrzebę badań dotyczących zmian w funkcjonowaniu

ekosystemów zachodzących pod wpływem działalności człowieka, w tym przypadku pod wpływem gatunków inwazyjnych.

- Bardzo ciekawym aspektem rozwiniętym w rozprawie doktorskiej Pana Krzysztofa Podwysockiego, a stosunkowo rzadko podejmowanym w literaturze, są badania wykazujące istnienie wewnątrzgatunkowej zmienności potencjału inwazyjnego. Doktorant przeprowadził szczegółowe badania na jednym gatunku skorupiaka inwazyjnego *D. villosus*, jednak wnioski z tych badań mają szerokie zastosowanie w badaniach inwazyjności gatunków. Doktorant wykazał między innymi konieczność integracji danych dotyczących wielu populacji w ocenach zdolności gatunków obcych do rozprzestrzeniania oraz ich potencjalnego wpływu w nowym środowisku.
- Dwie prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej, w których Doktorant jest pierwszym autorem, zostały opublikowane w uznanych i wysoko punktowanych czasopismach naukowych: NeoBiota 140 pkt. i Hydrobiologia 100 pkt. MNiSW.

Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę przedstawione argumenty stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana mgr Krzysztofa Podwysockiego pt. „Assesment of the invasion potential of two genetically distinct populations of the Ponto-Caspian amphipod *Dikerogammarus villosus* / Ocena potencjału inwazyjnego dwóch genetycznie zróżnicowanych populacji pontokaspijskiego obunoga - *Dikerogammarus villosus*” spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2024.1571 t.j.).

Zwracam się zatem do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie Pana mgr Krzysztofa Podwysockiego do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Gdynia, 7.01.2025 r.

Urszula Janas