

Imię i nazwisko autora rozprawy doktorskiej: **Anna Dzierżyńska-Białończyk**

Tytuł rozprawy doktorskiej: **Czynniki wpływające na aktywność lokomotoryczną, rozmieszczenie i ruch muszli małża *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771)**

Promotor: **dr hab. Jarosław Kobak**

1) Ogólna struktura

Na przedstawioną mi do recenzji rozprawę doktorską Pani Anny Dzierżyńskiej-Białończyk składają się trzy prace badawcze, opublikowane w latach 2018-2019 w liczących się międzynarodowych czasopismach (Current Zoology, Freshwater Biology, Hydrobiologia), indeksowanych m.in. przez Web of Science oraz Scopus. We wszystkich publikacjach doktorantka jest pierwszą autorką, a w dwóch z nich dodatkowo jest autorką korespondencyjną. Deklaracje zarówno samej doktorantki jak i współautorów jednoznacznie wskazują na znaczący wkład doktorantki (szacowany na poziomie 55-70%) w przeprowadzenie wszystkich badań, a następnie w powstanie samych publikacji. Rozprawa wzbogacona jest krótkim komentarzem autorskim w języku polskim, liczącym 13 stron wraz z bibliografią do komentarza składającą się z 34 pozycji. Dodatkowo rozprawę uzupełnia streszczenie w języku polskim i angielskim.

2) Wartość naukowa

Tematyka badań doktorskich Pani Anny Dzierżyńskiej-Białończyk dotyczy biologii racicznicy zmiennej, małego słodkowodnego Ponto-Kaspijskiego gatunku małża znanego ze swej spektakularnej inwazji kontynentów Europy oraz Ameryki Północnej. Obok wylesiania oraz globalnych zmian klimatu, rozprzestrzenianie się po Ziemi obcych gatunków inwazyjnych jest jedną z głównych przyczyn zaniku bioróżnorodności oraz drastycznych zmian w funkcjonowaniu całych ekosystemów. Dla przykładu, zasiedlanie zbiorników przez racznicę zmienną jest powszechnie uznawane za poważne zagrożenie dla rodzimej fauny małży z rodziny skójkowatych. Inwazje biologiczne wiążą się często również z koniecznością ponoszenia kosztów ekonomicznych niwelowania ich niepożądanych skutków oraz mogą

wpływać na jakość życia ludzi. W przypadku racicznicy zmiennej, która przyczepiając się bisiorami do podłoża masowo pokrywa twarde przedmioty zanurzone w wodzie, są to m.in. koszty związane z udrażnianiem instalacji wodnych. Inwazyjnemu rozprzestrzenianiu się gatunków towarzyszą gwałtowne zmiany relacji międzygatunkowych oraz oddziaływań między organizmami a środowiskiem, co stwarza okazję do badania podstawowych charakterystyk procesów ekologicznych i ewolucyjnych. Na przykład, skuteczność racicznicy zmiennej w opanowywaniu obcych środowisk oznacza posiadanie zdolności do takich reakcji na nowe warunki (drapieżniki, pasożyty, czynniki abiotyczne), które zapewniają racicznicy relatywnie wysoką płodność oraz niską śmiertelność w nowym środowisku. Za bardzo cenne w badaniach doktorantki uważam to, że ich wyniki odnoszą się do wszystkich ważnych aspektów towarzyszących inwazjom gatunków obcych. Z jednej strony, nie mam wątpliwości, że badania doktorantki były głównie motywowane pytaniami podstawowymi - czy racicznica zmienna posiada zdolność oceny środowiska oraz czy reaguje na tę informację w sposób wskazujący na dbanie o maksymalizację dostosowania. Z drugiej strony, wyniki mają oczywiste znaczenie dla lepszego zrozumienia (i) wpływu racicznicy zmiennej na małże z rodziny skójkowatych, (ii) skuteczności racicznicy zmiennej w odporze presji drapieżników w kolonizowanych środowiskach, czy (iii) charakterystyki procesu obrastania instalacji wodnych przez racicznicę zmienną.

Doktorantka w swoich badaniach zastosowała różnorakie podejście metodologiczne (badania terenowe oparte o zbieranie danych o zastanych wzorcach biologicznych, manipulacyjne eksperymenty laboratoryjne i terenowe testujące szczegółowe hipotezy), co wymagało dużej sprawności w planowaniu i przeprowadzaniu badań, oraz elastycznego myślenia zarówno o szczegółach jak i o ogólnej wizji badań. Należy podkreślić, że podejścia te się świetnie uzupełniają, co pozwala na śmielsze przekładanie wniosków na sytuacje w warunkach naturalnych. Badania zostały zaplanowane bardzo drobiazgowo, z dbałością o najwyższe standardy metodologii nauki. Bez wdawania się w szczegóły, chciałbym także podkreślić pomysłowość w zastosowaniu nietuzinkowych rozwiązań technicznych, które umożliwiały testowanie postawionych hipotez (np. zastosowanie zautomatyzowanych technik analizy różnych aspektów behawioru małży). Za najważniejsze, z punktu widzenia poznawczego, uznałem następujące odkrycia oraz ich implikacje dla przyszłych badań:

- a) Wbrew utartym poglądom na temat preferencji do życia w skupieniach z innymi przedstawicielami swojego gatunku, doktorantka wykazała (publikacja 1 i 2), że obierając miejsce do życia, racicznica zmienna nie kieruje się bliskością osobników swojego gatunku, a nawet może unikać takiej bliskości. Pozostaje jednak nadal

faktem, że rozmieszczenie racicznicy jest wysoce skupiskowe. Dlatego, wyniki doktorantki mogą wskazywać na to, że siedliskowe preferencje racicznicy zmieniają się z kontekstem środowiskowym, co uzasadnia kontynuowanie badań w tej dziedzinie.

- b) Potwierdzając publikowane w literaturze sugestie z obserwacji terenowych, doktorantka wykazała eksperymentalnie oraz w oparciu o dane porównawcze zebrane w terenie (publikacja 2), że zakopywanie się małży skójkowatych w podłożu ogranicza osadzanie się na ich muszli racicznicy zmiennej. Co więcej, doktorantka zademonstrowała, że larwy racicznicy zmiennej (stadium planktonowe) mogą nielosowo osadzać się na różnych gatunkach małży skójkowatych, a obrośnięcie przez racicznice w różnym stopniu upośledza poszczególne gatunki skójkowatych. Odkrycia te uzasadniają kontynuowanie badań nad różnicami między gatunkami skójkowatych pod względem ich zagrożenia obrośnięciem przez racicznice zmienną oraz nad powiązaniem tego zagrożenia z charakterystyką dna zbiorników wodnych.
- c) Doktorantka zademonstrowała eksperymentalnie istnienie u racicznicy zmiennej, sugerowanego wcześniej w literaturze mechanizmu obrony indukowanej – ograniczania aktywności metabolicznej celem zmniejszenia emisji metabolitów w obliczu bezpośredniego zagrożenia atakiem drapieżników (publikacja 3). To niedawno opisane w literaturze zjawisko u racicznicy zmiennej, które tłumaczyć może nieintuicyjne reakcje racicznicy na obecność niektórych typów informacji o drapieżnictwie, jak np. obniżanie siły przyczepu do podłoża w obecności resztek ciał zmiażdżonych innych racicznicy. Odkrycie doktorantki, że niektóre typy informacji o drapieżnictwie mogą wpływać antagonistycznie na wyzwalanie reakcji o charakterze obronnym jest ważnym argumentem za kontynuowaniem badań nad ewolucją indukowanej obrony przeciwdrapieżniczej u racicznicy zmiennej. Albowiem, wszystko wskazuje na to, że ten inwazyjny małż słodkowodny wydaje się odbiegać swoim zachowaniem wobec zagrożenia drapieżnictwem w porównaniu do innych gatunków małży (głównie są to małże morskie) przebadanych do tej pory pod kątem obrony indukowanej.

3) Uwagi krytyczne i pytania

Pomimo, że recenzowana przeze mnie rozprawa składa się z opublikowanych prac, które zostały ocenione przez kilku niezależnych ekspertów mam kilka uwag krytycznych

dotyczących podejścia do analizy danych i wyciągania z nich wniosków, licząc na wyjaśnienia i dyskusję doktorantki poruszonych przeze mnie kwestii.

- a) Badając preferencje racicznicy wobec osobników własnego gatunku oraz wobec różnych gatunków skójkowatych, doktorantka słabo podkreślała rozróżnianie między preferencjami planktonicznych larw racicznicy (veliger) a preferencjami form osiadłych racicznicy (publikacje 1 i 2). Organizmy są cyklami życiowymi i na każdym etapie takiego cyklu mogą mieć inne właściwości, np. mogą zmieniać preferencje lub awersje wobec tego samego czynnika. Dlatego używanie uproszczonych stwierdzeń nie rozróżniających poszczególnych etapów życia może wprowadzać w błąd, i tak np. jest w pierwszym zdaniu dyskusji w publikacji 1.
- b) Publikacja 1, eksperyment 1: doktorantka badała „decyzje” racicznicy co do pozostania w skupieniu lub jego opuszczenia w zależności od wielkości skupienia oraz rodzaju podłoża na którym skupienie umieszczono. Zakładała więc, że racicznice będą w stanie zorientować się w swojej sytuacji przed podjęciem decyzji o odczepieniu, a więc np. będąc przyczepionymi do innych osobników zorientować się jak duże jest skupienie oraz jakie jest podłoże wokoło (publikacja 1). Taki scenariusz jest mało prawdopodobny. Jednocześnie brakuje refleksji nad tym jaki wpływ na wyniki (% odczepionych racicznicy) mogły mieć dwa zjawiska: i) z jednej strony im większe skupienie tym mała ma mniej swobody w podejmowaniu niezależnych decyzji co do odczepienia się (nawet jak się odczepi, pozostanie w skupieniu jeśli inne osobniki się nie odczepią), ii) z drugiej strony im większe skupienie tym silniejszy efekt tzw. owczego pędu (czy można go wykluczyć u racicznicy zmiennej?), czyli decyzja o odczepieniu pojedynczego małża może być stymulowana decyzjami innych małży. Podejrzewam, że dyskusję tego zjawiska można przeprowadzić w oparciu o wyniki w Fig. 2 (publikacja 1).
- c) Publikacja 1, eksperyment 2: czy obniżonej ruchliwości racicznicy w pobliżu większych grup innych racicznicy nie można by interpretować przeciwnie do tego jak zrobiła to doktorantka (obecność innych racicznicy jako element stresu)? Mianowicie jako efekt dążenia do pozostania w pobliżu innych racicznicy (niekoniecznie szukając fizycznego z nimi kontaktu). Bliskość przedstawicieli tego samego gatunku powinna być wiarygodnym sygnałem, że w okolicy panują korzystne warunki do przeżycia i rozmnożenia.
- d) Publikacja 2: szkoda, że doktorantka nie dołączyła do rozprawy doktorskiej wydrukowanego suplementu (tak jak jest to zrobione w publikacji 1), gdyż zawiera on

tabele ze szczegółowymi wynikami modeli statystycznych, bez których trudna jest dogłębna interpretacja wyników przedstawionych w rozdziale Results (decyzja o umieszczeniu tabel w suplemencie zapewne była podyktowana polityką czasopisma, ale omalże nie przegapiłem tej jakże istotnej informacji, którą jednak udało mi się pozyskać ze strony internetowej czasopisma).

- e) Publikacja 2, terenowe badania porównawcze: zauważyłem niekonsekwencję w traktowaniu tych samych danych raz jako zmiennej zależnej, innym razem jako niezależnej. Najpierw dane o ilości racicznicy obrastających skójkowate są analizowane jako funkcja biomasy małży skójkowatych, a później na odwrót biomasa małży skójkowatych analizowana jest jako funkcja ilości obrastających je racicznicy.
- f) Publikacja 2, terenowe badania porównawcze: nie jest dla mnie jasne dlaczego akurat w jednej z analiz (GLMM) potraktowano osobnika małży skójkowatych jako czynnik losowy, podczas gdy inne dane o tych samych osobnikach analizowane w innych modelach nie uwzględniały już osobnika jako czynnik losowy. Potraktowanie osobnika jako czynnik losowy miałoby sens gdyby istniało zagnieżdżenie danych bądź gdyby zbierano tę samą informację kilkakrotnie o tym samym osobniku (alternatywa do modeli typu repeated measures). Dane o poszczególnych osobnikach były po prostu powtórzeniami dla danego gatunku małży skójkowatych, a więc osobnik nie powinien być czynnikiem losowym (tym bardziej, że w modelu czynnik ten występuje z inną zmienną niezależną „stopień obrośnięcia przez racicznicy”, która w ten sposób „zawiera się” do pewnego stopnia w efekcie „osobnik” – to nadmiarowość modelu/model redundancy, utrudniająca ocenę wpływu poszczególnych czynników które powinny być od siebie zależne).
- g) Publikacja 2: nie widzę dobrego uzasadnienia dlaczego stopień obrośnięcia małży skójkowatych przez racicznicy był raz wyrażany jako masa racicznicy na masę małży skójkowatych, a innym razem jako masa racicznicy na jednostkę powierzchni muszki małża skójkowatego.
- h) Publikacja 2, terenowe badania porównawcze: wyniki analizy wpływu stopnia obrośnięcia racicznicy na kondycję małży skójkowatych powinny być ponownie przeemyślane pod kątem artefaktu statystycznego. Model liniowy analizuje masę osobnika małży skójkowatych jako funkcję stopnia obrośnięcia tego osobnika przez racicznicy, a stopień obrośnięcia liczony jest przez podzielenie masy racicznicy przez masę osobnika małża skójkowatych. Oznacza to, że te same dane (masa osobników małży skójkowatych) występują za równo po stronie zmiennej zależnej jak i po stronie

zmiennej niezależnej. Skądinąd łatwo wykazać, że musi istnieć ujemna zależność między wartościami X a ich odwrotnościami $1/X$ i jest to czysty artefakt. Co więcej gdyby zamiast wartości 1 w czynniku $1/X$ wstawiać liczby losowe, to nadal istniałaby ujemna zależność między X a tak policzoną odwrotnością X . A właśnie cała uwaga we wspomnianej przeze mnie analizie wpływu obrastania na masę małży skójkowatych skupia się na ujemnych zależnościach między masą osobników małży skójkowatych a stopniem ich obrośnięcia. Odrzuceniu hipotezy zerowej w tej analizie będzie więc sprzyjać wspomniane zjawisko matematyczne, i rzeczywiście aż 7 na 9 regresji przedstawionych przez Fig. 8 oraz w Tabeli 5 suplement (publikacja 2) ma właśnie nachylenie ujemne, co może być tylko (lub w dużym stopniu) efektem zjawiska matematycznego które opisałem powyżej, a nie odzwierciedleniem negatywnego wpływu obrastania racicznicy na kondycję małży obrośniętych.

- i) Publikacja 2, terenowe badania porównawcze, Tabela 4 suplement: z tabeli wynika, że w odróżnieniu od innych analiz w pracy ta jedna analiza nie uwzględniała niezależnych efektów rodzaju dna oraz gatunku skójkowatych (od razu oba czynniki występują w interakcjach pierwszego i drugiego stopnia). Nie widzę argumentów przemawiających za wyrzuceniem z analiz osobnych wpływów tych głównych czynników, tym bardziej że jest to w sprzeczności z opisem struktury tego modelu w rozdziale Methods.
- j) Publikacja 2, terenowe badania porównawcze, Tabela 4 suplement: model GLM użyty do analizy danych biomasy małży skójkowatych ma bardzo złożoną i wielowymiarową strukturę, z dwoma ciągłymi predyktorami (kowariaty), które są obecne w każdym analizowanym przez model efekcie (8 typów efektów), zarówno jako w samotności (2 efekty), jak i w interakcji z innymi czynnikami (6 efektów). Niezależnie czy interakcje z czynnikami ciągłymi są istotne statystycznie czy też nie, ostateczna interpretacja modelu liniowego z takimi interakcjami jest kłopotliwa, bo istotne różnice między grupami mogą pojawiać się i znikać oraz zmieniać nawet jakościowy charakter, zależnie od wartości kowariaty, w której centrowany jest model (zapewne dlatego doktorantka zdecydowała się na analizę post hoc w formie dopasowywania pojedynczych regresji do podzbiorów danych – Fig. 8, Tabela 5 suplement. Jednak przy takim podejściu należało badać istotność regresji uwzględniając poprawkę na liczbę porównań. Takie poprawki doktorantka stosowała przy innych modelach, ale nie jest jasne czy także do wielokrotnych analiz regresji). Wyjściem alternatywnym, byłoby kilkukrotne scentrowanie całego modelu w różnych

wartościach obu kowariat (np. w wartościach minimalnych, średnich i maksymalnych) i przeanalizowaniu różnic między grupami w takich modelach dostępnymi testami post hoc.

4) Podsumowanie

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani Anny Dzierżyńskiej-Białończyk pokazuje, że doktorantka zajęła się ważnym ale trudnym do badania, a przez to wciąż słabo poznanym zjawiskiem biologicznym. Doktoranta dobrze poradziła sobie z tym wyzwaniem, prowadząc uzupełniające się badania, w których wykorzystane zostały metody porównawcze wraz z eksperymentami. Doktorantka zadbała także o opublikowanie wyników badań w prestiżowych czasopismach naukowych, co zapewne ułatwi wpłynąć wynikom badań doktorantki na rozwój nauki. Badania doktorantki prowadzone były z dużym rozmachem i wymagały skoordynowanej pracy grupowej, dlatego nie budzi żadnych wątpliwości to że prace stanowiące rozprawę doktorską mają po kilku autorów.

Niniejszym stwierdzam, że zrecenzowana przeze mnie rozprawa doktorska Pani Anny Dzierżyńskiej-Białończyk z naddatkiem spełnia warunki określone w art. 13.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami) i wnioskuję do Rady Naukowej w Dyscyplinie Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Pani Anny Dzierżyńskiej-Białończyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani Anny Dzierżyńskiej-Białończyk ze względu na wysoki poziom naukowy przeprowadzonych badań, co dodatkowo zostało potwierdzone przez pozytywne opinie niezależnych recenzentów trzech opublikowanych prac wchodzących w skład rozprawy.

Marcin Czarnołęski

