

Toruń, 13 stycznia 2022

Prof. dr hab. Jarosław Kobak
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych
Instytut Biologii
ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń
jkob73@umk.pl, +56 611 2647

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Jana M. Kaczmarka
„Rola drapieżnictwa w kształtowaniu interakcji pośrednich pomiędzy larwami płazów
bezogonowych (Anura)” (promotor: dr hab. Janusz Kloskowski, prof. UPP)**

Niniejsza recenzja sporządzona została na podstawie dokumentacji otrzymanej przeze mnie 22 grudnia 2021 r. z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, w związku z wyznaczeniem mnie przez Radę Dyscypliny Nauki Biologiczne UPP do pełnienia funkcji recenzenta rozprawy doktorskiej mgr. Jana M. Kaczmarka. Recenzję wykonałem na podstawie dostarczonych mi materiałów:

- Kopii trzech artykułów wchodzących w skład rozprawy;
- Streszczenia rozprawy w języku polskim i angielskim;
- Polskojęzycznego omówienia podstaw teoretycznych, celów, metod i wniosków wynikających z rozprawy;
- Oświadczeń wszystkich współautorów o udziale Doktoranta w poszczególnych artykułach składających się na rozprawę.

Recenzowana rozprawa składa się z trzech artykułów naukowych opublikowanych w latach 2018-2021 w czasopismach umieszczonych w bazie Journal Citation Reports:

1. Kaczmarek, J. M., Kaczmarowski, M., Mazurkiewicz, J., Kloskowski, J. 2018. A matter of proportion? Associational effects in larval anuran communities under fish predation. **Oecologia** 187: 745-753. DOI: 10.1007/s00442-018-4141-3 (IF=2,915, Q2 wg. bazy Web of Science, 35 pkt MNiSW wg. roku publikacji, 100 pkt wg. aktualnej listy czasopism MEiN)
2. Kaczmarek, J. M., Kaczmarowski, M., Mazurkiewicz, J., Kloskowski, J. 2020. Numbers, neighbors, and hungry predators: What makes chemically defended aposematic prey susceptible to predation? **Ecology and Evolution** 10: 13705-13716. DOI: 10.1002/ece3.6956 (IF=2,910, Q2, 100 pkt)
3. Kaczmarek, J. M., Kaczmarowski, M., Mazurkiewicz, J., Kloskowski, J. 2021. Forget the toad and eat the frog: no associational protection against fish from a chemically defended toad to a later-breeding anuran species. **Ethology, Ecology and Evolution**. DOI: 10.1080/03949370.2021.1967455 (IF=1,298, Q3, 70 pkt)

Artykuły opatrzone są odpowiednimi zaświadczeniami współautorów, informującymi o wkładzie Doktoranta w przeprowadzone badania, co jest trochę nietypowe – zwykle każdy z

Autorów, łącznie z samym doktorantem, przedstawia deklarację o własnym udziale. Tym niemniej, nie ulega wątpliwości, że wkład Doktoranta w opublikowane badania był kluczowy i dominujący: we wszystkich artykułach jest On pierwszym i korespondencyjnym autorem (w grupie czterech, zawsze tych samych, współautorów), zajmował się wszystkimi kluczowymi etapami powstawania prac, a jego udział procentowy został za każdym razem oszacowany na 70%. Rozprawa jest zaopatrzona w 4-5-stronnicowe streszczenia w języku polskim i angielskim, a także obszerny, 82-stronnicowy opis przedstawianych do oceny artykułów (w języku polskim), zawierający ogólny wstęp z tłem teoretycznym tematyki badawczej, omówienie celów badań i metodyki oraz główne wyniki i wnioski.

Artykuły wchodzące w skład rozprawy zostały opublikowane w czasopiśmie o uznanej renomie międzynarodowej (IF 1,298-2,915, Q2-Q3 wg. Web of Science, 70-100 pkt wg. aktualnej listy MEiN). Rozprawa doktorska przedstawiona w formie serii opublikowanych wieloautorskich artykułów wskazuje na ważną zaletę Doktoranta: umiejętność pracy w zespole i korzystania z doświadczeń jego członków, co jest niezbędnym elementem warsztatu współczesnego badacza. Nie ulega wątpliwości spójność tematyczna przedstawionych do oceny artykułów, które omawiają różne aspekty wybranego zjawiska przyrodniczego, stopniowo wzbogacając i pogłębiając jego znajomość. W świetle powyższych faktów, formalną stronę rozprawy oceniam bardzo wysoko.

Drapieżnictwo jest jednym z kluczowych czynników kształtujących funkcjonowanie ekosystemów oraz ewolucję organizmów. Mechanizmy bezpośredniej eliminacji ofiar przez drapieżniki (tzw. „consumptive predator effects”) i ich konsekwencje są stosunkowo dobrze poznane, jednak bardziej złożone zależności związane z mechanizmami obronnymi ofiar (tzw. „non-consumptive predator effects”), czy interakcjami między gatunkami ofiar z tej samej gildii (współdzielących te same drapieżniki) są wciąż niejasne i zasługują na dokładniejsze rozpoznanie. Tego typu badania są niezwykle istotne dla poznania kluczowych mechanizmów funkcjonowania ekosystemów i zrozumienia procesów w nich zachodzących. W związku z tym, wybór tematyki badawczej przez Doktoranta i zespół stanowiący Jego wsparcie merytoryczne również należy ocenić wysoko. Artykuły wchodzące w skład rozprawy dotyczą zależności w układzie składającym się z trzech gatunków ofiar różniących się między sobą poziomem skuteczności i rodzajem mechanizmów obrony przed drapieżnikami oraz z polującego na nie drapieżnika. Organizmami modelowymi były larwy trzech gatunków płazów bezogonowych: **ropuchy szarej** (*Bufo bufo*) – umiarkowanie toksyczne dla drapieżników, o ciemnym, aposematycznym ubarwieniu, oraz **żaby trawnej** (*Rana temporaria*) i **żaby śmieszki** (*Pelophylax ridibundus*) – pozbawione ochrony chemicznej i ubarwione kryptycznie, a także wszystkożerna ryba – **karp** (*Cyprinus carpio*), pełniąca w tym układzie rolę drapieżnika. Warto jednak zauważyć, że badania Autorów to nie tylko prosta historia o płazach i rybach – organizmy te stanowią model służący do wyjaśnienia uniwersalnych zjawisk przyrodniczych, wykraczających poza konkretne gatunki i typ środowiska. Takie uniwersalne podejście, przejawiające się w sposobie przeprowadzenia narracji we wstępach i dyskusjach ocenianych artykułów, jest kolejnym aspektem pracy zasługującym na uznanie. Kolejną wartą podkreślenia zaletą pracy jest eksperymentalne podejście do rozwiązywanego problemu, co, w odróżnieniu od badań korelacyjnych, pozwala na poszukiwanie związków przyczynowo-skutkowych

między poszczególnymi czynnikami w badanych układach oraz umożliwia wyjaśnienie mechanizmów obserwowanych zjawisk, a nie tylko ich opis.

W szczególności, poszczególne artykuły poruszają następujące zagadnienia:

1. *Artykuł #1* przedstawia wpływ względnej liczebności osobników dysponujących ochroną chemiczną – larw ropuchy szarej oraz bezbronnych – larw żaby trawnej, w dwugatunkowym zespole potencjalnych ofiar na drapieżnictwo karpia, a także wpływ obecności drapieżnika na wynik konkurencji międzygatunkowej między wymienionymi gatunkami płazów bezogonowych.
2. *Artykuł #2* wyjaśnia dalsze szczegóły zjawisk zaobserwowanych w *Artykule #1*. Autorzy opisują wpływ poziomu głodu drapieżnika, bezwzględnego zagęszczenia ofiar dysponujących obroną chemiczną (w układzie jedno- i dwugatunkowym) oraz ich względnego zagęszczenia (podobnie jak *Artykuł #1*) w dwugatunkowym zespole potencjalnych ofiar na drapieżnictwo karpia.
3. *Artykuł #3* zawiera wyniki badań nad trwałością wcześniej stwierdzonego zjawiska ochrony przed drapieżnikami, zapewnianej bezbronnemu gatunkowi ofiar (w tym przypadku była to żaba śmieszka) przez obecność podobnego gatunku dysponującego obroną chemiczną (ropucha). Autorzy testowali, czy ochrona taka utrzymuje się również po zniknięciu gatunku dysponującego obroną chemiczną ze środowiska.

Do najważniejszych osiągnięć rozprawy zaliczam:

1. Wykazanie, że przeżywalność potencjalnych ofiar **dysponujących obroną chemiczną** rośnie z ich bezwzględną i względną liczebnością w środowisku oraz dzięki obecności alternatywnych źródeł pokarmu dla drapieżnika.
2. Wykazanie, że przeżywalność potencjalnych ofiar **dysponujących obroną chemiczną** maleje wraz ze wzrostem względnej liczebności bezbronnych ofiar o podobnym wyglądzie w środowisku („sąsiedzkie narażenie”, „*associational susceptibility*”).
3. Wykazanie, że przeżywalność potencjalnych ofiar **niedysponujących obroną chemiczną** rośnie ze wzrostem względnej liczebności podobnych morfologicznie, ale chronionych chemicznie ofiar w środowisku („sąsiedzka odporność”, „*associational resistance*”).
4. Wykazanie, że **obecność drapieżnika osłabia przewagę konkurencyjną** gatunku pozbawionego obrony chemicznej nad gatunkiem chronionym, obserwowaną w środowisku pozbawionym drapieżnika.
5. Wykazanie, że opisane wyżej zjawisko ochrony przed drapieżnikami, zapewnianej bezbronnemu gatunkowi ofiar przez obecność podobnego gatunku dysponującego obroną chemiczną („sąsiedzka odporność”), działa wyłącznie w warunkach jednoczesnego współwystępowania obu gatunków, natomiast **ochrona nie utrzymuje się** po zniknięciu toksycznego gatunku ofiar ze środowiska.
6. Stwierdzenie, że powyższe zjawiska wynikają z efektów sąsiedztwa w **układzie pozbawionym mimikry batesowskiej** – tzn. w sytuacji, kiedy organizm pozbawiony realnej ochrony nie upodabnia się do gatunku dysponującego skutecznymi mechanizmami obronnymi w drodze doboru naturalnego, tylko wykazuje ogólne podobieństwo wynikające z bliskości taksonomicznej i/lub podobnego trybu życia. Tu jednak mam pewne zastrzeżenie, o którym piszę poniżej w części poświęconej uwagom krytycznym.

Mocnymi stronami ocenianego cyklu artykułów są:

1. Udana próba przetestowania **układu składającego się z kilku gatunków potencjalnie wchodzących ze sobą w różne złożone interakcje** – drapieżnika i kilku gatunków ofiar, które mogą na siebie polować, konkurować między sobą oraz wpływać wzajemnie na swój poziom bezpieczeństwa. Taki układ jest bardziej złożony i realistyczny w porównaniu z często badanymi prostymi zależnościami dwugatunkowymi (drapieżnik vs. ofiara), a zatem dostarcza nam znacznie więcej cennych informacji o funkcjonowaniu naturalnych ekosystemów.
2. Właściwy dobór **modelu eksperymentalnego**, umożliwiającego przetestowanie przyjętych hipotez.
3. Wykonanie **badania eksperymentalnych w stosunkowo dużej skali** (zewnątrzne stawy doświadczalne), jednocześnie przy utrzymaniu ściśle kontrolowanych warunków doświadczenia. Takie podejście do tego typu badań ekologicznych nie zdarza się często ze względu na trudności techniczne i lokalowe (dominują badania korelacyjne lub eksperymenty laboratoryjne w małej skali), a jego efektem jest znacznie zwiększona wiarygodność uzyskanych wyników i ich lepsze przełożenie na warunki naturalne.
4. Umiejętność poradzenia sobie z napotkanymi **trudnościami technicznymi** (np. inwazja innego gatunku larw do części układów eksperymentalnych, ograniczona liczba niezależnych stawów) za pomocą odpowiednich reakcji w trakcie badań i umiejętnego podejścia do analizy statystycznej.
5. Wysoki poziom **analizy danych** i umiejętność logicznej **interpretacji uzyskanych wyników**, z wykorzystaniem istniejącej wiedzy literaturowej i doświadczenia Autorów.
6. Szczególnie umiejętne poradzenie sobie z „**negatywnymi**” **wynikami z artykułu #3**, gdzie hipoteza robocza nie została potwierdzona. Zwykle (choć niesłusznie) takie wyniki trudniej opublikować niż te, które pokazują jakieś istotne zależności, jednak Autorzy zrobili to bardzo skutecznie, odpowiednio uzasadniając zastosowane przez siebie podejście, właściwie argumentując i interpretując uzyskane wyniki.

Opublikowane artykuły podlegały już rygorystycznym recenzjom wydawniczym, przez co wolne są od większości uchybień i błędów technicznych spotykanych w pracach na etapie maszynopisu. Tym niemniej, moim obowiązkiem jest również wskazanie potencjalnych mankamentów ocenianej rozprawy, od których żaden tekst nie jest wolny. Podczas lektury artykułów wchodzących w skład rozprawy, zauważyłem kilka drobnych niedociągnięć, dyskusyjnych (albo po prostu mniej dla mnie zrozumiałych) fragmentów i spraw wymagających wyjaśnienia. Poniżej przedstawiam listę szczegółowych komentarzy do poszczególnych części recenzowanego tekstu:

1. Autorzy zdecydowanie twierdzą, że obserwowane przez nich zjawiska są niezależne od występowania mimikry polegającej na upodobnieniu się bezbronnego gatunku ofiary do gatunku dysponującego ochroną przeciwdrapieżniczą w drodze doboru naturalnego. Zamiast tego, postulują oparcie zaobserwowanych interakcji na ogólnym podobieństwie ofiar do siebie, wynikającym nie z doboru naturalnego, ale z ich bliskości taksonomicznej lub ekologicznej (w omawianym przypadku dającej w efekcie „ogólny pokrój ciała kijanki”, postrzegany przez drapieżnika). O ile zgadzam się, że taka interpretacja wydaje

się najbardziej prawdopodobna, to moim zdaniem nie można z całą pewnością wykluczyć istnienia mimikry w badanym układzie. Otóż prawdą jest, że larwy ropuchy (chronione chemicznie) jako jedyne spośród trzech badanych gatunków wykazują ciemne ubarwienie aposematyczne, podczas gdy pozostałe (bezbrotne) gatunki są ubarwione kryptycznie. A więc pod tym względem upodobnienie się bezbronnych gatunków do zabezpieczonego nie ma miejsca. **Co jednak z możliwością upodobnienia się do siebie różnych gatunków pod względem chemicznym?** Mam na myśli sygnały chemiczne emitowane do środowiska – metabolity wydzielane przez larwy do wody i potencjalnie rozpoznawane oraz używane przez drapieżniki przy wykrywaniu i rozpoznawaniu rodzaju pożywienia? Informacja chemiczna jest powszechnie stosowana przez organizmy wodne żyjące w środowisku, w którym widoczność bywa często ograniczona. Dotyczy to szczególnie występującego często w zamulonych wodach karpia. Zdaję sobie sprawę, że w zestawach eksperymentalnych Autorów widoczność była najprawdopodobniej dobra (mała głębokość, kontrolowana jakość wody), jednak mówię tu o ewolucyjnych uwarunkowaniach wykorzystanego gatunku drapieżnika – wydaje mi się mało prawdopodobne, że taka ryba jak karp przy wyborze pokarmu i uczeniu się o jego jakości korzysta wyłącznie z bodźców wzrokowych. Tak więc, opieranie wniosków o istnieniu lub braku mimikry wyłącznie na różnicach i podobieństwach w ubarwieniu badanych larw wygląda na pewnego rodzaju antropomorfizację, typową dla wzrokowców – ludzi. Tymczasem powinniśmy w takich przypadkach brać pod uwagę to, w jaki sposób postrzega świat badany organizm.

2. *Artykuł #1.* Dlaczego zmienna „czas do osiągnięcia przeobrażenia” (time to metamorphosis) była analizowana za pomocą uogólnionego modelu liniowego, a nie którejś z metod **analizy przeżycia** (survival analysis – np. modelu proporcjonalnego hazardu Coxa – Cox proportional hazards model), co pozwoliłoby na prawidłowe uwzględnienie w modelu danych uciętych (w tym przypadku: osobników, które w ogóle nie dokonały przeobrażenia aż do końca eksperymentu)?
3. *Artykuł #1.* **Wydłużenie czasu do osiągnięcia przeobrażenia przez larwy ropuchy w obecności drapieżnika** wydaje mi się nieco zaskakującym wynikiem. Organizmy w warunkach zagrożenia zwykle przyspieszają przeobrażenie, żeby opuścić zagrożone środowisko, szczególnie, że negatywne oddziaływanie konkurenta było w obecności drapieżnika ograniczone, więc wzrost i rozwój mógł odbywać się bez przeszkód. Jak można wytłumaczyć takie zjawisko?
4. *Artykuł #3.* Zastanawiam się, czy wysoka śmiertelność larw żaby śmieszki w drugim etapie eksperymentu nie wynikała ze sposobu ich wprowadzenia do układu. W innych przypadkach larwy płazów zasiedlały zbiorniki wcześniej, a dopiero po ich zadomowieniu się wprowadzane były ryby. Natomiast tutaj **ofiary zostały wpuszczone do zbiorników już zasiedlonych przez zadomowione drapieżniki**, więc mogliśmy mieć do czynienia z czymś w rodzaju „karmienia ryb żywym pokarmem”. Chyba, że zostały zastosowane jakieś środki ochrony ofiar w czasie ich introdukcji – jednak nie znalazłem takiej informacji w tekście.
5. *Artykuł #3.* Nie do końca rozumiem, czy etap pierwszy eksperymentu z *Artykułu #3* był tożsamy z eksperymentami opisanymi w *Artykułach #1 i 2* (co zdaje się wynikać z polskojęzycznego opisu rozprawy oraz zbieżności terminów), czy też te doświadczenia

były wykonywane niezależnie. Tak czy inaczej, niejasne są dla mnie **rozbieżności w wynikach przeżywalności prezentowanych w Tabeli 1 Artykułu #3 oraz na Ryc. 1-2 Artykułu #1**. Na przykład, według Tabeli 1 przeżywalność larw żaby trawnej przy proporcji gatunków 50:50% (N=20+20) wynosiła 0, a według Ryc. 1 – ok. 40%. Nawet jeśli były to osobne ekspozycje, to rozbieżności między teoretycznie podobnymi do siebie wariantami są znaczne i warte wyjaśnienia.

6. Dlaczego do analizy zależności między przeżywalnością larw żaby śmieszki i wcześniejszą przeżywalnością ropuch zastosowano prostą **korelację Spearmana**? Wcześniej w podobnej sytuacji (przy analizie wpływu początkowej liczebności larw ropuchy na przeżywalność żaby śmieszki) zastosowany był uogólniony model liniowy, uwzględniający niepełną niezależność danych (zagnieżdzenie prób w stawach eksperymentalnych) oraz rok eksperymentu. Natomiast w przypadku prostej korelacji te dodatkowe aspekty układu doświadczalnego zostały pominięte i zastosowany został test znacznie uproszczony w stosunku do warunków doświadczenia. To samo dotyczy zastosowania **korelacji Pearsona** do badania zależności między przeżywaniem larw żaby śmieszki i żaby trawnej. Tu pojawiają się jeszcze dodatkowe pytania: (i) Dlaczego tym razem zastosowana została korelacja Pearsona a nie Spearmana? (ii) Dlaczego ta analiza nie jest opisana ani uzasadniona w metodach, tylko pojawia się od razu w postaci wyniku?
7. *Artykuł #3*. Do porównania przeżywalności larw żaby śmieszki w wariancie bezrybnym z pozostałymi wariantami (z udziałem drapieźnika) zastosowany został **test U Manna-Whitney'a** (ponownie – brakuje opisu w metodyce). Nie jest dla mnie jasne, w jaki sposób w tym teście uwzględniony został fakt, że wariantów z drapieźnikami było kilka – różniących się między sobą wcześniejszą obecnością larw ropuchy i żaby trawnej w różnych proporcjach.

Chciałbym podkreślić, że powyższe uwagi krytyczne dotyczą głównie kwestii szczegółowych, a zauważone mankamenty nie wpływają na wiarygodność głównych wniosków wypływających z rozprawy i nie zmieniają mojej ogólnej, bardzo wysokiej oceny całej pracy, która z całą pewnością stanowi istotny wkład w literaturę światową dotyczącą interakcji w układzie drapieźnik-ofiara. Szczególnie cenne są bardzo dobrze przemyślane, zaprojektowane, przeprowadzone i przeanalizowane eksperymenty pokazujące funkcjonowanie takich układów w sytuacji, gdy ofiary są reprezentowane przez grupę gatunków różniących się między sobą poziomem i mechanizmami obrony przeciwdrapieżniczej. Z całą pewnością, dzięki badaniom Doktoranta i Jego zespołu, wiemy na ten temat znacznie więcej niż przedtem. Uzyskane wyniki są bardzo ważne zarówno z poznawczego, jak i z praktycznego punktu widzenia, ułatwiając planowanie skutecznych metod ochrony i zwracając uwagę na czynniki, które należy uwzględnić podczas skutecznego przywracania badanych gatunków do środowiska naturalnego. Na uwagę zasługuje bardzo wysoki poziom każdego etapu prowadzonych badań – od ich zaplanowania, poprzez wykonanie prac, analizę i interpretację danych, aż do napisania tekstu. Pozwoliło to na powstanie wartościowych publikacji, docenionych przez redakcje uznanych międzynarodowych czasopism naukowych z dziedziny ekologii.

Zgodnie z powyższą argumentacją stwierdzam, że rozprawa Pana mgr. Jana M. Kaczmarka spełnia z dużym naddatkiem wymogi stawiane rozprawie doktorskiej przez Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (art. 13 ustawy z 14 marca 2003 z późniejszymi zmianami – tekst jednolity: Dziennik Ustaw 2017, poz. 1789) na podstawie Ustawy Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (art. 179, ust. 1 ustawy z 3 lipca 2018, Dziennik Ustaw 2018, poz. 1669). Doktorant zaprezentował dużą wiedzę teoretyczną oraz wysoki poziom warsztatu naukowego, co świadczy o Jego dojrzałości naukowej i umiejętności prowadzenia badań. W związku z tym, wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Go do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, ze względu na wykazany powyżej, bardzo wysoki poziom merytoryczny przedstawionych mi do oceny artykułów (pomysłowe i umiejętne zaplanowanie eksperymentów, wysoki poziom analizy danych, wszechstronna i logiczna interpretacja wyników) oraz bardzo dużą wartość naukową uzyskanych wyników (nowatorskie wyjaśnienie ogólnych kwestii dotyczących wielogatunkowych interakcji między ofiarami i drapieżnikami, a także poznanie istotnych szczegółów biologii badanych gatunków, umożliwiające ich skuteczniejszą ochronę), wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.



Jarosław Kobak

