

Kraków, 7 maja 2015

dr hab. Marcin Czarnołęski  
Instytut Nauk o Środowisku  
Uniwersytet Jagielloński  
Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr. Szymona Śnieguli, zatytułowanej „Compensating developmental rate in dragonflies and damselflies (Odonata) as a response to photoperiod along a latitudinal gradient”.**

Badania na ważkach składające się na ocenianą rozprawę doktorską, Pan Śniegula zrealizował pod kierunkiem profesora Franka Johanssona z Department of Ecology and Genetics, Uppsala University w Szwecji. Badania te zaplanowano i przeprowadzono z dużym rozmachem. Doktorant wykorzystał zaplecze naukowe dwóch ośrodków naukowych - w Szwecji i w Polsce, zbierał dane porównawcze w populacjach kilku gatunków ważek, położonych na różnych szerokościach geograficznych, oraz przeprowadzał eksperymenty laboratoryjne na zwierzętach wywodzących się z różnych populacji i z różnych szerokości geograficznych. W efekcie, doktorant zarówno badał zmienność zastaną w populacjach naturalnych jak i wyzwał ją eksperymentalnie badając plastyczność fenotypową, a nawet badał uwarunkowania genetyczne różnic w tej plastyczności. Omówione w rozprawie badania zaowocowały już pięcioma publikacjami. Przeprowadzenie badań rozciągniętych w czasie oraz przestrzeni na kilku różnych gatunkach organizmów, zastosowanie zróżnicowanego podejścia metodologicznego do testowania hipotez oraz doprowadzenie do publikacji wyników musiało od doktoranta wymagać dyscypliny, dobrej organizacji pracy i planowania, naukowego skupienia, umiejętności współpracy w zespole, a także zapewnienia ciągłości finansowania badań – doktorant w czasie realizacji badań pozyskał dwa granty badawcze (MNiSW oraz NCN) oraz stypendium Etiuda NCN.

Na przedstawioną do oceny rozprawę doktorską składa się pięć artykułów naukowych oraz poprzedzające je 45-cio stronicowe omówienie badań w języku angielski, a także obszerne streszczenie w języku polskim. Artykuły opublikowano w okresie 2010-2014 w czterech indeksowanych w bazie ISI czasopismach naukowych: Odonatologica, Ecological Entomology, Oikos oraz PLoS ONE. Doktorant jest pierwszym autorem w czterech publikacjach, a współautorem jednej publikacji. Według załączonych informacji doktorant był wiodącym autorem wszystkich artykułów - jest pomysłodawcą i głównym wykonawcą badań, przeanalizował ich

wyniki i przygotował manuskrypty do publikacji. Warto tu podkreślić, że doktorant biegle włada językiem angielskim i zarówno omówienie jak i artykuły dobrze się czyta, choć doktorant nie ustrzegł się kilku błędów językowych. Na przykład, używa zwrotów „higher development” zamiast „faster development”, „premature growth” zamiast na przykład „juvenile growth”, czy używa czasami formy mnogiej czasowników i rzeczowników tam gdzie należy użyć formy pojedynczej lub odwrotnie np. „it also suggest”. W opublikowanym artykule 3, doktorant używa raz wyrażenia “size-corrected relative growth rate”, a innym razem “size-correlated relative growth rate” (str. 1077), to drugie to zapewne przejęzyczenie. Czasami doktorant budował nadmiernie skomplikowane konstrukcje, na przykład: „All studied populations of *Lestes sponsa* took shorter time for larval development” albo “Field sampled eggs at high latitudes will show bigger size”). Zaskoczył mnie również sposobem przedstawiania w bibliografii prac autorstwa kilku osób, wymieniając tylko pierwszego autora, a następnych autorów ukrywając pod „et al”. Oczywiście to standardowy sposób cytowania takich prac w tekście, ale nie budowania zestawu bibliograficznego. Pragnę jednak podkreślić, że tego typu niedociągnięcia nie były nagminne oraz w istotny sposób nie zmieniają one jakości przedstawionej rozprawy.

W omówieniu swoich artykułów doktorant postawił sześć hipotez, które go motywowały. Dalej doktorant zapoznał czytelnika z podstawami biologii rozwoju ważek, zwracając szczególną uwagę na sposób rozplanowania ich cyklu życiowego względem długości sezonu wegetacyjnego. Ta część rozprawy jest szczególnie przydatna, gdyż przedstawia w jednej i spójnej perspektywie badania. W kolejnej części omówienia doktorant pokrótce przedstawił metody swych badań, choć brak tu wielu ważnych szczegółów metodologicznych, w tym metod statystycznej analizy danych, bez których nie można ocenić wartości wyników. Po te informacje trzeba sięgnąć do prac oryginalnych ale jest to zrozumiałe jeśli rozprawa doktorska dotyczy zestawu opublikowanych już artykułów. Nie mniej, doktorant mógł ułatwić to zadanie czytelnikowi rozbudowując Figure 4, gdzie zamiast przedstawiać abstrakcyjne wykresy mógł schematycznie pokazać hipotetyczne wyniki w odniesieniu do hipotez. Na końcu omówienia doktorant przedstawia główne wyniki każdego artykułu, a omówienie swe kończy zestawem literatury do której odwoływał się w tej części rozprawy. Dyskusja wyników zawarta w omówieniu jest jednak w dużej mierze powtórzeniem tego co znajduje się w wynikach i dyskusji każdego artykułu. Doktorant mógł w swym omówieniu wyjść poza ramy narzucone przez strukturę artykułów i podążać perspektywą jaką wprowadził na początku formułując hipotezy. Należało więc popatrzeć na ogólny obraz jaki wyłania się z wyników wszystkich badań (artykułów), konfrontując je z hipotezami, zamiast z osobna omawiać wyniki każdego artykułu. Takie potraktowanie różnych badań pomogłoby

sformułować uogólnienia, a także zintegrować wyniki dwóch podobnych ale niezależnie przeprowadzonych badań na tym samym gatunku *Lestes sponsa*. Dane o tych ważkach opublikowano w dwóch artykułach, w artykule drugim z 2010 roku oraz w artykule piątym z 2014 roku, i niestety omówiono osobno.

W swych badaniach doktorskich, Pan Szymon Śniegula podjął się zbadania związku między elementami strategii życiowych pięciu gatunków ważek, długością fotoperiodu oraz szerokością geograficzną z której badane ważki pochodziły. Poszukiwanie związków między odległością od równika, a cechami organizmów nie jest niczym nowym w badaniach przyrodniczych. W roku 1847, Carl Bergmann, jeden z Ojców reguł eko-geograficznych, opisał zjawisko powiększania się rozmiarów ciała pokrewnych gatunków zwierząt stałocieplnych wraz z szerokością geograficzną. Dwanaście lat później Karol Darwin w dziele „O powstawaniu gatunków drogą doboru naturalnego” przedstawił swą wizję ewolucyjnego różnicowania się organizmów. Jednak pomimo świadomości istnienia wzorców eko-geograficznych oraz dostępu do narzędzi teoretycznych które powinny te wzorce tłumaczyć, jak dotąd nikt nie przedstawił satysfakcjonującego wyjaśnienia wzorców, chociażby wspomnianej reguły Bergmanna. Badania doktorskie Pana Śnieguly oceniam jako oryginalny i cenny wkład w dyskusję nad ewolucyjnymi mechanizmami powstawania wzorców eko-geograficznych u zwierząt zmiennocieplnych. Doceniam również uparte zadawanie przez doktoranta tego samego pytania w odniesieniu do różnych gatunków ważek - czy organizmy te są zdolne do nadrabiania swoim rozwojem krótszego sezonu wegetacyjnego w populacjach wysuniętych daleko na północ. Taką zdolność sugerują wyniki obserwacji poczynionych przez doktoranta w populacjach z różnych szerokości geograficznych, opublikowane w pierwszym z pięciu artykułów stanowiących przedmiot rozprawy. Obserwacje te pokazały, że przesunięcie w czasie pojawiania się dorosłych ważek w północnych populacjach w porównaniu z południowymi populacjami jest niewielkie w stosunku do przesunięcia w czasie rozpoczęcia sezonu wegetacyjnego. Co ciekawe, pomimo dużych różnic w szerokości geograficznej z której pochodziły badane ważki, nie we wszystkich przypadkach doktorant wykrył różnice w wielkości dorosłych ważek na różnych szerokościach. Tak na przykład, ważki *Lestes sponsa*, *Coenagrion puella* oraz *Coenagrion pulchellum* charakteryzowały się mniejszymi rozmiarami ciała na północy niż na południu, a więc odwrotnie niż to przewiduje reguła Bergmanna, ale ważki *Coenagrion johanssoni* nie różniły się wielkością na różnych szerokościach geograficznych. Szkoda, że doktorant nie zbadał trendów geograficznych w wielkości ciała u pozostałych gatunków, dla których zbierał informacje o czasie pojawiania się imago w ciągu roku (artykuł 1). Podejrzewam, że doktorant przy okazji tych badań dosłownie miał w ręku odpowiedni materiał do pomiarów wielkości ciała.

Kompletne dane porównawcze dotyczące wielkości ciała różnych gatunków ważek na różnych szerokościach geograficznych stanowiłyby cenne tło dla dyskusji wyników eksperymentów.

W swoich eksperymentach doktorant testował dwa główne przewidywania, które mogą pomóc wyjaśnić dlaczego fenologia pojawiania się ważek jest w niewielkim stopniu zależna od szerokości geograficznej. Ważki żyjące na północy Europy, będące pod wpływem krótkiego okresu wegetacyjnego, podlegają silnej presji selekcji w kierunku przyspieszania rozwoju larwalnego. Według doktoranta przyspieszenie to może następować poprzez podwyższenie tempa wzrostu larw kosztem osiągnięcia mniejszych rozmiarów ciała przez kolejne stadium - imago. Według pierwszej hipotezy efektem takiego nacisku mogła być ewolucja wśród ważek z północy (adaptacja) przyspieszonego rozwoju larwalnego połączonego z osiąganiem mniejszych rozmiarów ciała przez dorosłe ważki. Według drugiej z hipotez, która nie wyklucza słuszności pierwszej, ważki z północy i południa nie muszą różnić się genetycznie strategiami życia, ale kierując się fotoperiodem oceniają ograniczenia czasowe narzucane przez długość okresu wegetacyjnego i poprzez plastyczność fenotypową dostosowują tempo swojego rozwoju do szerokości geograficznej na której żyją. Na przykład, wyczuwając fotoperiod charakteryzujący północne tereny przyspieszają tempo rozwoju i osiągają mniejsze rozmiary jako imago, ale w obliczu fotoperiodu z terenów południowych spowalniają tempo rozwoju i osiągają większe rozmiary jako imago.

Eksperymenty doktorant rozpoczynał od pozyskania jaj od ważek zamieszkujących populacje na różnych szerokościach geograficznych w Europie (w zasadzie oś Polska-Szwecja). Następnie dzielił miot każdej samicy na dwie pule. Jedną z nich (w formie jaj lub świeżo wyklutych larw) poddawał działaniu fotoperiodu charakterystycznego dla populacji położonych na północy Europy, a drugą pulę umieszczał w fotoperiodzie charakterystycznym dla populacji położonych na niższej szerokości geograficznej. Eksperymenty były kończone albo na etapie stadium larwalnego albo imago. W ten sposób doktorant badał różnice genetyczne w rozwoju i wielkości ciała między ważkami z północy i południa oraz wyzwał plastyczne zmiany tych cech pod wpływem fotoperiodu charakterystycznego dla różnych szerokości geograficznych. Wyniki eksperymentów są ciekawe, ale nie są jednoznaczne. Najpełniejsze dane doktorant uzyskał dla gatunku *Lestes sponsa* (artykuł 5). W populacjach wysuniętych na północ larwy tych ważek miały genetycznie uwarunkowaną tendencję do szybszego rozwoju i szybszego tempa wzrostu. Za warte podkreślenia uważam to, że doktorant zdołał uchwycić w tym eksperymencie koszty strategii przyspieszania rozwoju – szybkorosnące larwy z północy charakteryzowała wyższa śmiertelność oraz przekształcały się one w mniejsze ważki dorosłe. Wyniki pozostałych eksperymentów wykazały genetycznie uwarunkowaną tendencję do osiągania większych rozmiarów ciała w populacjach z

niższych szerokości geograficznych u ważek *Leucorrhinia dubia* (pod koniec rozwoju larw; artykuł 1) ale odwrotną tendencję, czyli większe rozmiary na wyższych szerokościach geograficznych, u *Coenagrion puella* i *Coenagrion pulchellum* (pod koniec rozwoju larwalnego; artykuł 3) oraz u *Coenagrion johanssoni* (larwy zaraz po wykluciu z jaj; artykuł 4). Te wyniki byłyby jednak mocniejsze gdyby doktorant analogicznie do badań z artykułu 5 zmierzył bezpośrednio długość rozwoju larwalnego oraz określił wielkość imago. Dlaczego tego nie zrobił? Zamiast tego doktorant porównywał tempo wzrostu, za każdym razem inaczej mierzone, ale do metod wyrażania tempa wzrostu mam osobne uwagi w dalszej części recenzji. Ważnym wynikiem jest wykazanie, że fotoperiod północny przyspieszał tempo rozwoju ważek czy ich tempo wzrostu (np. artykuł 5), choć stopień reagowania na fotoperiod, a nawet kierunek tej reakcji różnił się między gatunkami i szerokością geograficzną, z której pochodziły ważki. Ciekawe, że larwy *Lestes sponsa* (artykuł 5) z populacji najdalej wysuniętych na północ charakteryzowała najniższa plastyczność długości rozwoju ale jednocześnie przejawiały one największą plastyczność tempa wzrostu. Być może jest to wskazówka, że w warunkach jakie panują na wyższych szerokościach geograficznych ważki nie tylko starają się skrócić rozwój, ale także nie dopuścić do zbytniego pomniejszenia wielkości ciała imago. W moim omówieniu zwróciłem uwagę jedynie na kilka wybranych wyników badań doktoranta, które wydały mi się szczególnie ważne do podkreślenia z perspektywy trwającej dyskusji na temat kształtowania strategii życiowych organizmów zamieszkujących różne szerokości geograficzne. Według przewidywań teorii ewolucji strategii życiowych to właśnie zróżnicowana presja czasu związana z sezonowością środowiska, jest odpowiedzialna za dużą część zróżnicowania strategii życiowych organizmów. Należy więc podejrzewać, że ten wpływ leży u podstaw powstawania trendów eko-geograficznych, które podążają zgodnie z przewidywaniami reguły Bergmanna albo są odstępstwem od tej reguły.

Jedną z przyczyn trwającego impasu w poszukiwaniach wyjaśnienia wzorców eko-geograficznych może być skupienie badań na pojedynczych gatunkach modelowych (na przykład muszkach *Drosophila melanogaster*), a następnie przekładanie wyników na resztę często odległych taksonomicznie organizmów. W ten sposób ignoruje się potencjalną zmienność relacji organizmów ze środowiskiem oraz zaniedbuje charakterystyczne dla gatunku czy nawet populacji właściwości biologiczne. Na przykład świeżo opublikowane metaanalizy danych sugerują, że organizmy wodne różnią się zasadniczo od organizmów lądowych swoimi reakcjami na ten sam czynnik środowiska, np. temperaturę ze względu na inne ograniczenia jakim podlegają. Z podobnych powodów owady o tchawkowym układzie transportu gazów mogą podlegać innym ograniczeniom niż organizmy wykorzystujące do transportu układ krwionośny. Doktorantowi udało się uniknąć tendencji to

automatycznego przekładania wyników z jednego gatunku na inne. Przeprowadził on bowiem serię dość podobnych eksperymentów i badań terenowych, ale za każdym razem skupiał się na innym gatunku ważek, które pozyskiwał zawsze z kilku populacji położonych na tej samej szerokości geograficznej, a następnie populacje te traktował, obok szerokości geograficznej, jako czynnik w analizach statystycznych. Oczywiście, łatwo w takiej sytuacji o zarzut, że takie badania są mało twórcze, gdyż powtarzają raz ustaloną procedurę na kolejnych gatunkach oraz populacjach, a gatunków i populacji do zbadania jest z perspektywy badacza nieskończona liczba. Nie widzę jednak takiego problemu w ocenianych badaniach. Po pierwsze, dostrzegłem, że każdy eksperyment bazował na doświadczeniach poprzedniego (ostatni artykuł dostarcza najpełniejszych danych na temat badanego zjawiska). Szczególnie widać to w podejściu doktoranta do sposobu oceny tempa wzrostu i rozwoju czy traktowania efektu rodziny w modelowaniu statystycznym. Po drugie, gatunki jakie doktorant wykorzystał do eksperymentów nie były przypadkowe i przynależą do jednego z trzech typów cykli życiowych przedstawionych w omówieniu artykułów. Typy te różnią się długością trwania cyklu życiowego względem długości sezonu wegetacyjnego, a ich rozróżnienie ma znaczenie dla interpretacji wyników przedstawionych badań.

Kolejnym potencjalnym źródłem omawianego impasu wydaje się być nadmierne skupienie na pojedynczych czynnikach środowiska, które co prawda zmieniają się wraz z odległością od równika, jak na przykład średnia roczna temperatura powietrza, ale nie koniecznie odgrywają w pojedynkę decydującą rolę w różnicowaniu strategii życiowych organizmów zamieszkujących populacje w różnych miejscach na Ziemi. Doktorant zamiast powielać badania innych badaczy nad wpływem temperatury na rozwój ważek, skupił się na stosunkowo słabo zbadanych efektach fotoperiodu. Nie mniej uważam, że wartościowe byłoby przeprowadzenie w przyszłości badań ważek jednocześnie poddawanych wpływowi różnych warunków termicznych i fotoperiodu. Jest to uzasadnione ponieważ znaczenie presji czasu związanej z długością sezonu wegetacyjnego powinno zależeć od tempa procesów fizjologicznych, a to tempo u larw ważek jest związane z temperaturą otoczenia. Warto jednak pamiętać, że temperatura w zbiorniku wodnym nie będzie bezpośrednim przełożeniem temperatury powietrza, a właściwości zbiornika, w którym żyją larwy ważek mogą być szczególnie ważne wiosną, kiedy właściwości te decydują o tempie rozmarzania powierzchni wody. Innym czynnikiem, który warto byłoby włączyć do badań tempa rozwoju stadiów larwalnych ważek jest presja drapieżników wodnych. Wyczuwam, że doktorant zdawał sobie sprawę z potencjalnego wpływu tego czynnika na tempo rozwoju ważek, gdyż w metodach artykułów podawał informacje czy zbiorniki wodne, z których odławiał ważki były zasiedlone przez ryby. Zróznicowanie presji drapieżników między zbiornikami wodnymi mogłoby wyjaśnić na

przykład duże różnice w wielkość dorosłych ważek *Coenagrion pulchellum* między populacjami szwedzkimi (Figure 2b; artykuł 3). Doktorant nie wypowiedział się jednak nigdzie na temat potencjalnego znaczenia takiego czynnika dla kształtowania dynamiki cykli życiowych ważek. Prosiłbym o ustosunkowanie się doktoranta do potencjalnej roli temperatury i presji drapieżników w odpowiedzi larw ważek na fotoperiod. Dodatkowo jestem ciekaw stanowiska doktoranta w sprawie problemu, który doktorant tylko zasygnalizował między wierszami w swoich artykułach. Mianowicie, u wielu owadów, jak na przykład ważek, rozwój larwalny zachodzi w kompletnie innych warunkach niż życie kolejnego stadium – imago. Jednocześnie „decyzje rozwojowe” jakie podejmuje larwa zamieszkująca wodę mają wpływ na cechy stadium imago, które zamieszkuje ląd. Na przykład, skrócenie rozwoju larwalnego pod wpływem presji drapieżników wodnych powinno pociągnąć za sobą nie tylko lepsze czasowe dostosowanie pojawienia się imago w sezonie wegetacyjnym, ale także skutkować zmniejszeniem rozmiaru dorosłej ważki, a ten rozmiar powinien wpłynąć na płodność, przeżywalność, czy zdolność znalezienia partnera. Ciekawe w tym kontekście są wyniki artykułu piątego. Wykazały one większą plastyczność rozmiaru dorosłego samicy niż samców w odpowiedzi na długość fotoperiodu, co może sugerować różne koszty i zyski ze zmian tempa rozwoju samców i samic. Wcześniej wspominałem też, że artykuł ten wykazał większą plastyczność tempa wzrostu ale mniejszą tempa rozwoju w populacjach północnych. Tu warto zwrócić uwagę, że zdecydowana większość badań poświęconych wzorcom eko-geograficznym analizuje je z perspektywy pojedynczych cech organizmu, np. wielkości ciała jak w przypadku badań poświęconych regule Bergmanna. Jednocześnie wiemy, że dobór naturalny powinien kształtować całą strategię życiową, a więc tempo rozwoju, tempo wzrostu, tempo śmiertelności, tempo dojrzewania, sposób podziału zasobów między różne funkcje, a nie niezależnie każdy z tych elementów. Wyniki badań opisane w artykule piątym uwydatniły właśnie dylemat ewolucyjny przed jakim stoją organizmy: szybko rozwijające się larwy charakteryzowała większa śmiertelność.

Jeszcze jednym utrudnieniem w znalezieniu wytłumaczenia powstawania wzorców eko-geograficznych jest bez wątpienia trudność w odróżnieniu efektów plastyczności fenotypowej od efektów genetycznych adaptacji do lokalnych środowisk. Doktorant doskonale zdaje sobie z tego sprawę interpretując za każdym razem wyniki badań porównawczych ważek żyjących na różnych szerokościach geograficznych w powiązaniu z wynikami eksperymentów, które przeprowadza na ważkach pochodzących z tych samych populacji, ale hodowanych w laboratorium w kontrolowanych warunkach z jaj pozyskanych od osobników złapanych w terenie w momencie kopulacji. W ten sposób minimalizowane są potencjalne środowiskowe efekty pochodzenia ważek,

a uwytłumaczone różnice genetyczne między populacjami. Co więcej doktorant nie porównywał rozwoju ważek pochodzących z różnych populacji hodując je w jednych warunkach środowiskowych (a to bardzo częste podejście), ale zamiast tego rozdzielał jaja zniesione przez pojedyncze samice, a następnie poddawał te podgrupy działaniu różnych warunków środowiska (fotoperiodu). W ten sposób mógł nie tylko zbadać czy występuje rozwojowa plastyczność fenotypowa wyzwalana gradientem czynnika środowiska, ale także mógł zaobserwować różnice w normie reakcji na ten czynnik. Kulminacją tego podejścia jest piąty z kolei artykuł, w którym doktorant stosując wyrafinowane metody statystyczne oszacował udział efektów genetycznych w odpowiedzi fenotypowej ważek na fotoperiod. Mam jednak pytanie do doktoranta. Jak bardzo, opierając się na publikacjach metodologicznych z dziedziny genetyki ilościowej, oszacowania odziedziczalności plastyczności tempa wzrostu i tempa rozwoju ważek mogą być obciążone tym, że doktorant uzyskał te oszacowania na podstawie niewielkiej liczby samic, które były źródłem jaj. Liczba genotypów objęta badaniami będzie miała bowiem wpływ na poziom zmienności genetycznej.

Badania nad przyczynami zmienności geograficznej wielkości ciała organizmów zmienneocieplnych nabrały nowej perspektywy kiedy okazało się, że u wielu gatunków osobniki rozwijające się w niskich temperaturach choć rosną powoli przed dojrzewaniem, to na skutek odwleknięcia momentu dojrzewania osiągają zdolność do produkcji potomstwa przy większych rozmiarach ciała (tzw. w języku angielskim „temperature-size rule”, dalej używam polskiej wersji reguła temperatura-rozmiar). Taki typ normy reakcji może wyjaśnić powstawanie wzorców geograficznych opisanych regułą Bergmanna, ale wątpliwe aby wzorce te można sprowadzić jedynie do efektów zmian plastycznych w odpowiedzi na różne temperatury panujące na różnych szerokościach geograficznych. A nawet gdyby tak było, to reakcje plastyczne zgodne z regułą temperatura-rozmiar nadal wyglądają zagadkowo - dlaczego dobór naturalny utrwała w przyrodzie taki typ plastyczności? Moim zdaniem kluczem do zrozumienia ewolucyjnych podstaw wzorców opisanych regułą Bergmanna czy regułą temperatura-rozmiar jest objęcie badaniami nie tylko organizmów, które stosują się do tych wzorców, ale także organizmów u których obserwuje się odstępstwa od tych reguł. Wśród owadów stosunkowo rzadko obserwujemy reakcje zgodne z regułą Bergmanna czy regułą temperatura-rozmiar, ale paradoksalnie to właśnie jedna z grup owadów - muszki z rodzaju *Drosophila* są jednym z popularniejszych obiektów badań, gdyż stosują się do obu reguł. Pan Śniegula badał ważki, które wygląda na to, że wyłamują się z reguły Bergmanna i według wyników tych badań może to być związane ze zwiększającą się presją czasu na wyższych szerokościach geograficznych. Za bardzo obiecujący kierunek dalszych badań ważek, który



sygnalizuje w swej rozprawie doktorant, uważam zbadanie związku między nieregularnościami w trendach eko-geograficznymi, a zmianami długości trwania cykli życiowych ważek (od jednorocznych do wieloletnich).

Na zakończenie chciałbym przedstawić niedociągnięcia lub niejasności merytoryczne jakie znalazłem w rozprawie.

- 1) Niezbyt jasny jest schematyczny rysunek na stronie 17, przedstawiający koncepcję countergradient oraz cogradient variation. Nie mam pewności czy doktorant dobrze rozumie te zjawiska, tym bardziej, że dość mętnie i niezgrabnie odwołuje się do tych koncepcji również w tekście omówienia. Na przykład, nie wiadomo czy doktorant uznałby jako przykład zjawiska countergradient variation występowanie genetycznie uwarunkowanych różnic między ważkami z różnych szerokości geograficznych w ich plastycznych reakcjach rozwojowych na fotoperiod.
- 2) Doktorant założył, że fotoperiod i jego zmiany są jedynie sygnałem dla ważek. Jednak fotoperiod może również różnicować czas jaki zwierzęta mają na żerowanie (np. jeśli żerują tylko w czasie fazy jasnej lub ciemnej). Co prawda w eksperymentach doktorant podawał zwierzętom ustalone dawki pokarmu, ale tempo żerowania i ostatecznie poziom konsumpcji mógł zależeć od fotoperiodu i w ten sposób wpływać na tempo wzrostu i rozwoju. Prosiłbym doktoranta o ustosunkowanie się do tego problemu.
- 3) Do eksperymentów, jaja z populacji północnych były pozyskiwane później niż jaja z populacji południowych. O ile dobrze zrozumiałem metody, w następstwie tego przesunięcia w fenologii, jaja z populacji południowych trafiały do komór eksperymentalnych wcześniej niż jaja z północy. Ponieważ długość fotoperiodu w komorach zmieniała się w czasie według naturalnego wzorca, to nawet w tym samym zabiegu eksperymentalnym (np. fotoperiod charakterystyczny dla niskich szerokości geograficznych) jaja pochodzące z północy zaczynały się rozwijać przy zupełnie innej długości fotoperiodu niż jaja pochodzące z południa. Prosiłbym doktoranta o wyjaśnienie czy rzeczywiście zachodziło opisanie przeze mnie zjawisko, a jeżeli tak to jak w jego obliczu należy podejść do interpretacji wyników eksperymentów.
- 4) Pogubiłem się próbując zrozumieć mapki wyjaśniające miejsca odławiania zwierząt, zamieszczone w Figure 3 (strona 24-25). Musiałem zajrzeć do artykułów.
- 5) Nie do końca rozumiem co doktorant miał na myśli stwierdzając „considerable overlap” na stronie 27. Jakie kryterium należy użyć by to ocenić?
- 6) Doktorant dla określenia tempa wzrostu wielkości ciała ważek używał czasami terminów „intrinsic growth rate”, a czasami „routine growth rate”. Nie bardzo zrozumiałem o co w tych określeniach chodzi. Na przykład, dlaczego po prostu nie „growth rate”?

- 7) W eksperymentach, jaja od pojedynczej samicy były dzielone na dwie pule. I następnie każda pula poddawana była działaniu innego fotoperiodu (zabieg eksperymentalny). Statystycznie efekt rodziny/matki należy więc brać pod uwagę jako zmienną losową. Jednak z opisu metod wynika, że doktorant jedynie w ostatniej publikacji (artykuł 5) modelował efekt rodziny/matki, a w poprzednich czterech artykułach nie. Prosiłbym o ustosunkowanie się do tego problemu i ocenę czy pomijanie efektu rodziny/matki mogło mieć istotny wpływ dla wyników statystycznych czterech pierwszych artykułów.
- 8) Jak pokazały wyniki badań z artykułu 5, ważki mogą wykazywać dymorfizm płciowy wielkości ciała. Oznacza to, że larwy z których rozwijają się samice i samce mają inną dynamikę cyklu życiowego (różne tempo wzrostu, tempo rozwoju). Jednak zaprezentowane w artykułach dane o rozwoju larw nie rozróżniają ich płci. Czy różnice w proporcji larw płci męskiej i żeńskiej między grupami eksperymentalnymi mogą do jakiegoś stopnia wyjaśnić zaobserwowane nieregularności w wynikach eksperymentów?
- 9) Mam poważne zastrzeżenia do przydatności użytych miar tempa wzrostu. Tempo wzrostu można różnie definiować, a bardzo trudno porównywać, zależy bowiem ono od rozmiaru przy którym je mierzymy, poza tym chwilowe tempo wzrostu nic nie mówi o ogólnej trajektorii wzrostu. Jeszcze gorzej gdy dąży się do porównywania trendów w tempie wzrostu w sytuacji kiedy to tempo jest za każdym razem inaczej definiowane. Widać, że doktorant zmagał się z problemem jak określić tempo wzrostu larw. Moim zdaniem w ogóle należało nie badać tempa wzrostu, a jedynie skupić się na jasno zdefiniowanych i jednoznacznych cechach, takich jak długość trwania rozwoju, rozmiar imago, rozmiar jaja, itp. Na przykład, w artykule 1 doktorant bada tempo wzrostu stosując model z powtórными pomiarami (repeated measure ANOVA). W tym modelu o różnicach w tempie wzrostu świadczy istotna interakcja czas/grupa eksperymentalna. W artykule 2, tempo wzrostu określono dzieląc wielkość larw w czasie przeobrażenia przez liczbę dni jaką trwał rozwój. W artykule 3, tempo wzrostu nazwane jest „size-corrected relative growth rate” i zostało obliczone z równania wzrostu przypominającego równanie Bertalanffy’ego, jako zmiana wielkości ciała w jednostce czasu u larw o założonej wielkości ciała. Jednak już w artykule 4 tempo wzrostu jest zdefiniowane jako zmiana wielkości ciała przewidywana w danym wieku (a nie przy danej wielkości ciała jak poprzednio) przez inne równanie wzrostu (wielomian). W artykule 5, definicja tempa wzrostu nie jest jasna. Rozumiem ją tak, że podzielono wielkość larw w arbitralnym wieku 42 dni przez 42 dni. Zastanawiam się jak interpretować reakcje na fotoperiod tak różnie za każdym razem wyrażonego tempa wzrostu. Stwierdzenie, że u gatunku A tempo wzrostu rośnie w odpowiedzi

na określone warunki fotoperiodu, podczas gdy u gatunku B tempo wzrostu maleje może prowadzić na manowce jeśli za każdym razem tempo wzrostu jest inaczej zdefiniowane.

Podsumowując, Pan Szymon Śniegula w swojej rozprawie doktorskiej zaprezentował imponującą liczbę danych obserwacyjnych zebranych w terenie oraz uzyskanych w wyniku kontrolowanych eksperymentów laboratoryjnych. Pomimo kilku uwag krytycznych, które mam nadzieję doktorant przedyskutuje, pragnę podkreślić, że przedstawione mi do oceny badania dotyczą ważnego i wciąż żywo dyskutowanego problemu ekologii ewolucyjnej. Uważam je za wartościowy wkład w tą dyskusję. Publikując wyniki swych badań w liczących się czasopismach, w tym na forum czasopism skierowanych do szerszego grona specjalistów - Oikos i PloS ONE, doktorant moim zdaniem dowiódł, że swobodnie porusza się na froncie współczesnych badań ekologicznych. Uważam, że niniejsza rozprawa doktorska spełnia wymagania stawiane przez Ustawę z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz w Ustawie z dnia 18 marca 2011 r. o zmianie ustawy – Prawo o szkolnictwie wyższym, ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Ochrony Przyrody PAN w Krakowie o dopuszczenie Pana mgr. Szymona Śnieguli do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Marcin Czarnołęski