

Toruń, 22 maja 2023

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. Mateusza Raczyńskiego
„Wpływ interakcji antagonistycznych na cechy historii życiowych i fizjologicznych u
ważek równoskrzydłych (Odonata, Zygoptera)” (promotor: dr hab. Szymon Śniegula,
prof. IOP PAN)

Niniejsza recenzja sporządzona została na podstawie dokumentacji otrzymanej przeze mnie 29 marca 2023 r. z Instytutu Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk w Krakowie, w związku z wyznaczeniem mnie przez Radę Naukową IOP PAN do pełnienia funkcji recenzenta rozprawy doktorskiej mgr. Mateusza Raczyńskiego. Recenzję wykonałem na podstawie dostarczonych mi materiałów:

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

Recenzowana rozprawa składa się z czterech artykułów naukowych opublikowanych w latach 2020-2022 w czasopismach umieszczonych w bazie Journal Citation Reports:

- Artykuł 1. Śniegula S., Raczyński M., Gołąb M.J., Johansson F. 2020. **Effects of predator cues carry over from egg and larval stage to adult life-history traits in a damselfly.** *Freshwater Sciences* 39: 804-811
- Artykuł 2. Raczyński M., Stoks R., Johansson F., Śniegula S. 2021. **Size-mediated priority effects are trait-dependent and consistent across latitudes in a damselfly.** *Oikos* 130: 1535-1547
- Artykuł 3. Raczyński M., Stoks R., Śniegula S. **Warming and predation risk only weakly shape size-mediated priority effects in a cannibalistic damselfly.** *Scientific Reports* 12: 17324
- Artykuł 4. Raczyński M., Stoks R., Johansson F., Bartoń K., Śniegula S. 2022. **Phenological shifts in a warming world affect physiology and life history in a damselfly.** *Insects* 13: 622

Artykuły opatrzone są odpowiednimi zaświadczeniami współautorów, informującymi o ich wkładzie procentowym w przeprowadzone badania. Ponadto, wkład doktoranta jasno wynika z informacji zawartych w samych artykułach. W trzech pracach Doktorant jest pierwszym

autorem, w jednej – drugim, po Promotorze rozprawy. Z całą pewnością można powiedzieć, że Doktorant miał znaczący udział w badaniach stanowiących podstawę ocenianej rozprawy, angażując się w zaplanowanie i przeprowadzenie badań, analizę danych oraz interpretację uzyskanych wyników. Rozprawa jest zaopatrzona w 3-stronnicowe streszczenia w języku polskim i angielskim, a także 18-stronnicowy opis przedstawianych do oceny artykułów (w języku angielskim), zawierający ogólny wstęp z tłem teoretycznym tematyki badawczej, omówienie celów badań oraz główne wyniki i wnioski. Omówienie to ukazuje także powiązania między poszczególnymi artykułami i łączy je w spójny cykl tematyczny.

Artykuły wchodzące w skład rozprawy zostały opublikowane w międzynarodowych czasopiśmie o znaczącej renomie i restrykcyjnym procesie recenzyjnym. Wprawdzie główną podstawą recenzji powinna być ocena merytoryczna przedstawionej rozprawy, a nie jakości źródeł, w jakich została ona opublikowana, jednak nie sposób pominąć faktu, że szczególnie jeden z artykułów wchodzących w jej skład opublikowany został w prestiżowym czasopiśmie *Oikos*, a także międzynarodowej listy współautorów z uznanych na świecie ośrodków naukowych w każdej pracy. Z pewnością dużym atutem Doktoranta była przynależność do międzynarodowego zespołu badawczego o dużym doświadczeniu i znaczących osiągnięciach w dziedzinie ekologii wód słodkich, a w szczególności biologii i ekologii ważek, co zapewniło Mu niezbędne podstawy merytoryczne i zagwarantowało rzetelność uzyskanych wyników. W świetle powyższych faktów, formalną stronę rozprawy oceniam bardzo wysoko.

Artykuły wchodzące w skład rozprawy dotyczą wpływu różnych czynników (obecność drapieżników, konkurencja wewnątrzgatunkowa, fenologia, temperatura, fotoperiod) na cechy związane z historią życia (przeżywalność, długość rozwoju larwalnego, tempo wzrostu, masa osiągnięta na końcu okresu rozwoju) oraz fizjologią (chemiczny skład ciała, aktywność enzymów) ważek równoskrzydłych (Odonata, Zygoptera). Zagadnienia związane z historiami życia organizmów są bardzo istotne dla zrozumienia funkcjonowania populacji, zespołów organizmów i całych ekosystemów. Kształtują one dostosowanie organizmów do warunków siedliskowych, w zależności od lokalnych czynników związanych z klimatem, presją drapieżniczą czy obecnością konkurentów. Szczególnie w dzisiejszym, zmieniającym się świecie, doświadczającym globalnych zmian klimatycznych oraz przekształceń interakcji biotycznych na skutek zmian zasięgów i warunków życiowych organizmów, dokładne poznanie czynników kształtujących historie życia jest niezwykle istotne. Dlatego bardzo wysoko oceniam podjęcie przez Autorów takiej tematyki.

W szczególności, poszczególne artykuły poruszają następujące zagadnienia:

- **Artykuł #1** przedstawia zjawisko wpływu ekspozycji młodocianych stadiów (jaj i larw) na sygnały drapieżników na cechy późniejszych stadiów (odpowiednio larw i osobników dorosłych). Autorzy wykazali istnienie takiego wpływu (carry over effect) w postaci obniżenia przeżywalności i tempa wzrostu oraz opóźnienia metamorfozy.
- **Artykuł #2** przedstawia zjawisko efektu pierwszeństwa (priority effect), polegające na przewadze konkurencyjnej osiągniętej przez osobniki wcześniej wylęgające się z jaja i pojawiające się w środowisku. Autorzy wykazali, że u larw ważek efekt ten dotyczy tylko niektórych cech (jednak tych najistotniejszych, związanych z przeżywalnością) i nie zależy w znaczącym stopniu od czynników związanych z termo-fotoperiodem oraz pochodzeniem badanych osobników. Warunki termiczne i fotoperiod wpływały natomiast na czas i tempo

rozwoju, masę uzyskaną na końcu okresu rozwoju i parametry fizjologiczne (aktywność oksydazy fenolowej, zawartość tłuszczu i białek w ciele).

- **Artykuł #3** to kontynuacja badań nad efektem pierwszeństwa u larw ważek w związku z podwyższeniem temperatury otoczenia (związanym z globalnym ociepleniem) i obecnością drapieżników. Ponownie, Autorzy wykazali istnienie efektu pierwszeństwa związanego z lepszą przeżywalnością i skuteczniejszą metamorfozą wcześniej wylęgających się larw, jednak zjawisko to było niezależne od pozostałych badanych czynników (presji drapieżniczej i zmian temperatury). Czynniki te warunkowały natomiast czas i tempo rozwoju i/lub masę uzyskaną na koniec okresu rozwoju, ale nie parametry fizjologiczne (aktywność oksydazy fenolowej oraz zawartość tłuszczu i białek w ciele).
- **Artykuł #4** opisuje zmiany w fenologii rozwoju larw ważek pod wpływem prognozowanego podwyższenia temperatury związanego z ociepleniem klimatu: w wyższej temperaturze larwy częściej rozwijały się w ciągu jednego roku, zamiast w cyklu dwuletnim. Ponadto, w wyższej temperaturze larwy osiągały niższą masę na końcu okresu rozwoju i wykazywały wyższą aktywność oksydazy fenolowej (wskaźnik odpowiedzi immunologicznej).

Do najważniejszych osiągnięć recenzowanej rozprawy zaliczam:

1. Wykazanie efektu przenoszenia (carry over) pośredniego wpływu drapieżnika doświadczanego we wcześniejszych stadiach życiowych (jajo, larwy) na funkcjonowanie późniejszych stadiów życiowych ważek (larwy, osobniki dorosłe).
2. Wykazanie istnienia efektu pierwszeństwa (priority effect) dla wcześniej wylęgających się larw, w znacznym stopniu niezależnego od czynników środowiskowych (temperatura, fotoperiod, obecność drapieżnika) i genetycznych (pochodzenie badanych populacji).
3. Wykazanie wpływu podwyższonej temperatury (w kontekście globalnego ocieplenia) na przyspieszenie tempa rozwoju (zwiększenie rocznej liczby pokoleń) oraz obniżenie masy osobników na końcu okresu rozwoju.
4. Wykazanie zmian fizjologicznych zachodzących w larwach rozwijających się w warunkach podwyższonej temperatury – zależnie od gatunku ważki

Do mocnych stron rozprawy należą:

1. Właściwy wybór modelu eksperymentalnego. Ważki równoskrzydłe (*Ischnura elegans* i *Lestes sponsa*) są organizmami o złożonym cyklu życiowym, obejmującym wiele kolejnych linii i zmianę środowiska życia: okres larwalny spędzają w środowisku wodnym, a dorosłość na lądzie, doświadczając w tych okresach różnych warunków i będąc pod wpływem różnych czynników i presji selekcyjnych. Dlatego są wartościowym modelem w badaniach nad historiami życia i modyfikującymi je czynnikami. Ponadto, są to drapieżniki kontrolujące populacje swoich bezkręgowych ofiar, a jednocześnie stanowiące źródło pokarmu dla drapieżników wyższego rzędu (ryb). Dlatego pełnią one istotną rolę w zespołach organizmów, do których należą, a poznanie ich ekologii jest kluczowe dla zrozumienia mechanizmów funkcjonowania tych zespołów.
2. Eksperymentalne podejście do opracowywanego tematu, co pozwoliło na interpretację wyników w kontekście zależności przyczynowo-skutkowych, trudnych do wykazania na podstawie obserwacji o naturze korelacyjnej.

3. Bardzo staranne i precyzyjne zaplanowanie poszczególnych eksperymentów, z zadbaniami o pełnoczynnikowy układ każdego doświadczenia i eliminację czynników potencjalnie zaburzających obserwację mechanizmów będących celem doświadczenia. Należy docenić ogromny nakład pracy i staranność wykonania niełatwych, długoterminowych eksperymentów opisanych w rozprawie.
4. Oparcie planów badawczych, hipotez, metodyki i interpretacji danych na solidnej podstawie literaturowej, w znaczącym stopniu powstałej z udziałem członków zespołu współtworzącego artykuły z recenzowanej rozprawy.
5. Umieszczenie badanych historii życiowych w kontekście zmian klimatycznych, tak istotnych dla współczesnego świata.
6. Mulitdyscyplinarne podejście do badanego zagadnienia – Autorzy nie ograniczyli się tylko do obserwacji czysto ekologicznych, ale zbadali również fizjologiczne reakcje organizmów na testowane czynniki, zwiększając potencjał uzyskanych wyników i możliwości ich interpretacji.
7. Jednoznaczne powiązanie tematyczne całego cyklu artykułów: uzyskane wyniki uzupełniają się nawzajem, wcześniejsze wyniki stają się punktem wyjścia dla kolejnych badań, a całość zmierza do powstania spójnego obrazu historii życia badanych gatunków ważek.

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 dyskusyjnych stron ocenianej rozprawy, od których żaden tekst nie jest wolny. Podczas lektury artykułów wchodzących w skład rozprawy, zauważyłem kilka dyskusyjnych (albo po prostu mniej dla mnie zrozumiałych) fragmentów i spraw wymagających wyjaśnienia. Część z poniższych uwag to nie krytyka, tylko po prostu pytania lub pomysły, które nasunęły mi się podczas lektury rozprawy. Poniżej przedstawiam listę szczegółowych komentarzy do poszczególnych części recenzowanego tekstu:

Uwagi ogólne:

1. W części prac (np. **Artykuł #1, Artykuł #3**) pojawia się stwierdzenie, że pośrednie oddziaływanie drapieżnika (non-consumptive effects) może być silniejsze niż bezpośrednie (consumptive effects). Wydaje mi się to sprzeczne z podstawami mechanizmów ewolucji. Jeżeli oddziaływanie pośrednie – czyli zmiany w zachowaniu, historii życia, fizjologii i/lub morfologii ofiary indukowane przez obecność drapieżnika (głównie mechanizmy obronne, ich koszty i skutki uboczne), miałyby przynosić więcej szkód niż samo żerowanie drapieżnika, to takie cechy nie zwiększałyby dostosowania wykazującego je osobnika i zostałyby wyeliminowane przez dobór naturalny. Tak więc, koszty oddziaływania pośredniego drapieżnika mogą być poważne, ale nie mogą przekroczyć kosztów oddziaływania bezpośredniego.
2. Spośród szeregu zmiennych zależnych badanych przez Autorów w ich pracach, część z nich mogła też wpływać na inne, np. masa lub czas rozwoju mogły wpływać na przeżywalność czy sukces metamorfozy (co zresztą w niektórych przypadkach zostało wykazane przez Autorów). Dlatego zastanawiam się, dlaczego nie zostały one użyte jako zmienne towarzyszące w odpowiednich modelach. Mogłoby to ułatwić wykrycie wpływu pozostałych czynników, badanych w eksperymentach, poprzez zmniejszenie poziomu

- zmienności niewyjaśnionej w modelach. Z drugiej strony, taki zabieg mógłby zapobiec stwierdzeniu błędnych/niebezpośrednich zależności (np. odróżnienie sytuacji, w której badany czynnik bezpośrednio wpływa na przeżywalność, od takiej, w której badany czynnik wpływa na masę, a dopiero ta warunkuje przeżywalność).
3. Wiadomo, że zależności między masą i innymi cechami organizmów, zwłaszcza związanymi z metabolizmem (np. tempo wzrostu, aktywność enzymów, itp.) mają często charakter allometryczny, tzn. nieliniowy. W związku z tym, zastanawiam się, czy transformacja logarymiczna zmiennych, linearyzująca zależności allometryczne (potęgowe), nie pomogłaby w zwiększeniu mocy testów. Szczególnie w **Artykule #1** widać, że wyniki analiz nie do końca odzwierciedlają tendencje widoczne na ilustracjach, co pośrednio przyznają sami Autorzy, wspominając często o nieistotnych trendach.
 4. Tempo wzrostu było mierzone jako masa osobnika na końcu eksperymentu (dokładny moment pomiaru nieco różnił się w poszczególnych badaniach) podzielona przez czas rozwoju od wylęgu z jaja. Mam wątpliwość co do poprawności takiego obliczenia, ponieważ nie jest w nim uwzględniona masa początkowa larwy po wylęgu (która powinna być odjęta od końcowej). Moim zdaniem może to być istotny czynnik, np. w następujących przypadkach: (i) gdy końcowe różnice w masie między wariantami eksperymentu są niewielkie, lub (ii) gdy jakieś potencjalnie różnicujące czynniki działały w stadium jaja (jak np. w **Artykule #1**). W **Artykule #3** Autorzy uzasadniają taki sposób obliczeń faktem, że masa po wylęgu nie wpływa na masę osobników dorosłych. Jednak tu chodzi o coś innego, ponieważ analizowany jest wzrost (zmiana rozmiaru w czasie), a nie końcowy rozmiar. A przyrost masy w jednostce czasu jest zależny od wartości początkowej. Tzn., jeżeli końcowa masa jest taka sama, ale początkowe masy się różniły między sobą, to tempo wzrostu też było różne.
 5. W analizie przeżywalności uwzględniana była płeć larw. Nie jest dla mnie jasne, w jaki sposób oceniana była płeć larw, które padły ofiarą kanibalizmu, tzn. zniknęły ze zbiornika i trafiły w modelu do grupy osobników nieprzeżywających? Jeżeli przyjmowane było po prostu teoretyczne założenie, że stosunek płci początkowo wynosił 1:1, to mam wątpliwości: takie założenie działałoby przy dużej liczbie osobników, ale niekoniecznie dla kilku-kilkunastu larw eksponowanych w każdym zbiorniku eksperymentalnym. Poza tym, przydałaby się dokładniejsza informacja o sposobie i czasie oznaczania płci – nie znalazłem tego w żadnym z artykułów, a warto pamiętać, że takie prace czytają nie tylko specjaliści od ważek (np. ja...).
 6. Problem techniczny z niektórymi ilustracjami w artykułach polega na tym, że skala na osiach nie zaczyna się od 0, co sprawia, że różnice wyglądają na większe niż są w istocie. Rozumiem, że niekiedy taki zabieg jest przydatny, a nawet konieczny, jeśli różnice między wariantami są stosunkowo małe, ale istotne, i trzeba je jakoś pokazać. Jednak należy to wyraźnie podkreślić w podpisie rysunku, żeby nie wprowadzać czytelnika w błąd.
 7. W **Artykułach #2** i **#3** rysunki są zaopatrzone w kod literowy pokazujący istotność między poszczególnymi wariantami eksperymentu, co zwykle bardzo ułatwia odczytywanie wyników, szczególnie w przypadku tak licznych i złożonych analiz. Tutaj też taki kod został wprowadzony, jednak jest dla mnie trochę niezrozumiały... Zwykle jest tak, że grupy oznaczone różnymi literami (tzn. niemające żadnej wspólnej litery) różnią się istotnie między sobą. Jednak, gdyby tak było, to dlaczego np. w **Artykule #2** na Fig. 2b

regiony pochodzenia larw oznaczone są tymi samymi literami we wszystkich wariantach, skoro analiza pokazuje istotny wpływ tego czynnika? Dalej, w **Artykule #3** Fig. 2A nie pokazuje żadnych istotnych różnic w przeżywalności między grupami fenologicznymi (wszystkie mają literkę a lub b), co jest sprzeczne z opisem w tekście, wynikiem analizy i zdrowym rozsądkiem. Rozważałem jeszcze taką możliwość, że różniące się między sobą grupy mają co najmniej jedną różną literę, niezależnie od obecności pozostałych (choćby byłyby to nietypowe i nieintuicyjne). Jednak to dalej się nie zgadza ze stanem faktycznym, bo musiałyby się wtedy różnić grupy o prawie identycznych średnich (np. masy osobników: **Artykuł #2**: region centralny vs. północny w grupie mieszanej – wariant A+N, Fig. 2c; **Artykuł #3**: osobniki wylęgające się wcześniej w niskiej temperaturze w obecności drapieżnika vs. bez drapieżnika – wariant E, Fig. 2C). Tak więc, albo czegoś nie rozumiem, albo coś jest nie tak z tym kodem literowym... Z kolei w **Artykule #4** kodu literowego nie ma wcale, co niestety nie ułatwia czytelnikowi śledzenia tekstu...

Uwagi do poszczególnych artykułów wchodzących w skład rozprawy:

8. **Artykuł #1.** Drobiazg, ale trochę drażniący w przypadku kandydata do stopnia doktora nauk biologicznych: nazw rodzin (Chironomidae) nie piszemy kursywą! Tylko nazwy gatunkowe i poniżej w hierarchii taksonów.
9. **Artykuł #1.** Fig. 2A przedstawia przeżywalność larw przez pierwsze 2 tygodnie po wylęgu w zależności od ekspozycji na sygnały drapieżnika w stadium jaja i/lub larwy. Opis w tekście i interpretacja wyników wskazuje, że ekspozycja na sygnały drapieżnika zarówno w stadium jaja jak i larwy zmniejszała przeżywalność larw w porównaniu z innymi wariantami. Jednak Fig. 2A pokazuje coś innego: według rysunku, najniższa przeżywalność miała miejsce w przypadku ekspozycji larw na sygnał drapieżnika w stadium larwy, ale nie jaja. Obniżenie przeżywalności w porównaniu z kontrolą (bez sygnałów drapieżnika przez cały czas rozwoju) było mniejsze w przypadku ekspozycji na sygnał w obu stadiach, a w ogóle niewidoczne przy ekspozycji wyłącznie w stadium jaja. Czy to jest błąd na ilustracji? Tym niemniej, warto w tym przypadku pamiętać (i zachować ostrożność przy interpretacji), że interakcja między ekspozycją jaj i larw na sygnały drapieżnika była tu na granicy istotności statystycznej, ale jednak nieistotna ($P > 0,05$).
10. **Artykuł #1.** W dyskusji (pierwszy akapit) Autorzy piszą o zmniejszeniu czasu rozwoju w obecności drapieżnika. Jest to pomyłka, ponieważ wyniki wykazały coś przeciwnego – wydłużenie tego czasu u larw eksponowanych na sygnały drapieżnika
11. **Artykuł #1.** W dyskusji, Autorzy tłumaczą spowolnienie tempa rozwoju u larw wystawionych na sygnały drapieżnika faktem, że nie mogły one osiągnąć rozmiaru chroniącego je przed drapieżną rybą (size refuge). W związku z tym, przyspieszenie wzrostu nie miałoby sensu. Jednak nie do końca się z tym zgadzam, ponieważ, przyspieszając wzrost, larwy mogłyby osiągnąć coś innego – opuszczenie środowiska, w którym zagraża im ryba i przejście do życia na lądzie. Oczywiście uzyskany wynik nie potwierdził takiego mechanizmu, jednak pozostaje otwarte pytanie: dlaczego to nie zadziałało?
12. **Artykuł #2.** Autorzy twierdzą, że rozróżniali śmiertelność wynikającą z kanibalizmu od innych rodzajów śmiertelności. Jednak potem, w opisie analizy danych i wynikach, pojawia się już tylko zmienna Przeżywalność (Survival). Co to dokładnie było? Całkowita

- śmiertelność, czy wynikająca tylko z kanibalizmu? Jeżeli ta druga, to czy larwy, które zginęły w inny sposób, były zaliczane do ogólnej liczby osobników, czy całkowicie usuwane z analizy?
13. **Artykuł #2.** Autorzy twierdzą, że w przypadku tempa wzrostu larw nie zaobserwowali efektu pierwszeństwa (priority effect) – przewagi osobników wylęgających się szybciej nad wylęgającymi się późno. Jednak moim zdaniem, analiza i rysunek (Fig. S3) pokazują coś innego: miała miejsce istotna różnica między larwami wylęgającymi się wcześniej trzymanymi osobno i tymi trzymanymi razem z larwami wylęgającymi się późno (wcześnie lęgące się larwy z grupy mieszanej wykazywały szybsze tempo wzrostu). Wynik ten jest istotny tylko dla osobników pochodzących z populacji centralnej (jednak interakcja z regionem pochodzenia nie była istotna statystycznie, więc w zasadzie należałoby rozpatrywać tylko efekt główny dla grupy fenologicznej, a nie osobno dla regionów). Tym niemniej, taki wynik wskazuje na obecność efektu pierwszeństwa. Co prawda nie ma tu różnicy w porównaniu z osobnikami wylęgającymi się późno trzymanymi osobno, i być może to jest powodem takiego a nie innego wniosku Autorów. Jednak moim zdaniem to nie wyklucza istnienia efektu pierwszeństwa. Warto zauważyć, że to osobniki wylęgające się wcześniej mają komfort wynikający na początku z braku części konkurentów, a potem z faktu, że później wylęgający się konkurenci są od nich słabsi. Natomiast larwy wylęgające się późno zawsze mają towarzystwo zarówno osobników podobnych sobie, jak i tych wcześniejszych. Wyniki uzyskane przez Autorów pokazują, że: (i) larwy wylęgające się wcześniej rosną szybciej, jeżeli konkurują ze słabszymi osobnikami lęgącymi się później, niż kiedy muszą konkurować z równymi sobie, oraz (ii) larwy lęgące się późno nie rosną w ogóle w towarzystwie larw lęgących się wcześniej, bo nie przeżywają w takich warunkach. Moim zdaniem, to wystarczy do wykazania efektu pierwszeństwa, tzn. korzyści odnoszonej przez osobniki lęgące się wcześniej.
 14. **Artykuł #2 i #3.** W nawiązaniu do mojego poprzedniego komentarza, warto jednak zwrócić uwagę na jedną istotną rzecz, związaną z interpretacją wyników eksperymentów laboratoryjnych. Otóż mają one tendencję do zawyżania siły wpływu takich czynników jak konkurencja czy drapieżnictwo na funkcjonowanie badanych populacji czy zespołów organizmów. Ofiary i słabsi konkurenci w warunkach laboratoryjnych mają ograniczone możliwości ucieczki lub przemieszczenia się do alternatywnych siedlisk, co kończy się ich śmiercią, podczas gdy w warunkach naturalnych miałyby większą szansę przeżycia. Dotyczy to przede wszystkim drastycznej śmiertelności obserwowanej przez Autorów w grupie larw wylęgających się późno i trzymanyh w obecności osobników wylęgających się wcześniej. Nie jest to z mojej strony krytyka badań Autorów, ani tym bardziej stosowania eksperymentów w badaniach ekologicznych w ogóle. Są one bardzo przydatne i pozwalają odpowiedzieć na pytania niemożliwe do rozstrzygnięcia przez czysto korelacyjne badania terenowe. Chodzi mi tylko o to, żeby zdawać sobie sprawę z takich ograniczeń i zwracać na nie uwagę podczas interpretacji wyników.
 15. **Artykuł #2.** Autorzy podają w wynikach wynik negatywnej korelacji między aktywnością oksydazy fenolowej i tempem wzrostu. Zastanawiam się, dlaczego w celu określenia tej zależności jedna z tych zmiennych (np. tempo wzrostu) nie została wprowadzona jako zmienna towarzysząca do modelu analizującego drugą (np. aktywność enzymu)? To umożliwiłoby uwzględnienie istnienia różnych wariantów doświadczalnych, które w

prostej korelacji zostały (chyba?) pominięte. Tak więc, jeżeli któryś z tych wariantów wpływał zarówno na aktywność enzymu jak i na tempo wzrostu larw, to mógł też być prawdopodobną przyczyną wystąpienia tej korelacji (która w takim przypadku byłaby korelacją „fałszywą” – obie korelowane zmienne byłyby zależne od trzeciej, a nie od siebie nawzajem).

16. **Artykuł #2.** W Tabeli 1 jest chyba błąd w liczbie stopni swobody dla czynnika Grupa fenologiczna (Phenology) w modelu dla zmiennej Wiek podczas przeobrażenia (Age at emergence). Skoro grupa późno wylęgających się osobników trzymanyh razem z wylęgającymi się wcześniej została pominięta, to df powinno wynosić 2.
17. **Artykuł #2.** Autorzy zauważyli, że, wbrew przewidywaniom, wcześniej wylęgające się larwy z grupy mieszanej nie przeobrażały się wcześniej ani nie osiągały większej końcowej masy niż osobniki z pozostałych grup, pomimo teoretycznie najlepszych warunków pokarmowych, w których przebywały (dodatkowe źródło pokarmu w postaci młodszych i mniejszych osobników własnego gatunku). Zastanawiam się, czy nie da się tego wytłumaczyć paradoksalnie lepszą przeżywalnością larw w tej grupie. To mogłoby oznaczać, że w tej grupie znajdowały się również słabsze osobniki, które w pozostałych grupach nie dotrwały do metamorfozy, i to one zaniżyły uzyskane wyniki.
18. **Artykuł #3 i #4.** Autorzy informują, że przeżywalność była określana codziennie. Pytanie: po co, skoro analizowana była i tak przeżywalność końcowa? Być może, analiza przeżywalności w czasie (za pomocą modeli analizy przeżycia) dostarczyłaby dodatkowych wyników do interpretacji – mogło być tak, że końcowa przeżywalność była taka sama, ale wymieranie w trakcie doświadczenia zachodziło w różnym tempie w zależności od wariantu eksperymentalnego.
19. **Artykuł #3 i #4.** Czy da się stwierdzić, jak warunkowana jest liczba pokoleń w roku, czyli czas rozwoju larwy (roczny vs. dwuletni)? Czy jest ona uwarunkowana genetycznie, a zatem obserwowane w warunkach podwyższonej temperatury skrócenie czasu rozwoju do cyklu jednorocznego wynika z selektywnego przeżywania określonych osobników, czy też jest plastyczna, indukowana czynnikami środowiskowymi (tu: wyższą temperaturą)?
20. **Artykuł #4.** Mam wątpliwość, czy prawidłowe jest zaliczenie larw, które spróbowały przystąpić do metamorfozy, ale nie przeżyły tego procesu, do kategorii przeżywających. Takie osobniki w istocie nie dożyły dorosłości, więc nie miały szansy przekazania swoich genów kolejnym pokoleniom, dokładnie tak samo, jak larwy, które zginęły wcześniej.
21. **Artykuł #4.** Nie do końca rozumiem analizy i sposobu przedstawienia wyników dla zmiennej Liczba pokoleń w roku (Voltinism). Przede wszystkim, za pomocą modelu z rozkładem dwumianowym, analizuje się zmienną binarną (a więc przynależność osobnika do grupy z pokoleniem rocznym, albo do grupy z pokoleniem dwuletnim), a nie stosunek tych dwóch wartości. Po drugie, skoro istotny w modelu był tylko efekt główny czynnika Temperatura (z 2 poziomami), to po co w tekście prezentowane są skomplikowane wyniki testów post-hoc, z podziałem na grupy fenologiczne? Po trzecie, co właściwie prezentowane jest na Fig. 2B? Według podpisu i opisu osi pionowej, jest to stosunek liczby osobników dwuletnich do jednorocznych. Jednak taki stosunek nie może wynosić ok. 0,75, jeżeli liczby te wynoszą odpowiednio 20 i 7 (wcześnie wylęgające się osobniki w kontrolnych warunkach termicznych). Prawdopodobnie, w rzeczywistości jest to odsetek osobników dwuletnich wśród wszystkich osobników (czyli to, co tak naprawdę powinno

- być pokazane w związku z rodzajem analizowanej zmiennej). Jednak tak też nie może być, bo dla osobników wcześniej wylęgających się w wyższej temperaturze powyższe liczebności wynoszą odpowiednio 13 i 14, więc taki odsetek powinien wynosić ok. 0,50, a nie 0,25, jak to jest na rysunku.
22. **Artykuł #4.** Dlaczego w Tabeli 1 liczby stopni swobody dla interakcji przy zmiennych Czas rozwoju (Development time) i Tempo wzrostu (Growth rate) są różne niż 1, podczas gdy wszystkie wchodzące w skład interakcji czynniki mają po 2 poziomy?
 23. **Artykuł #4.** Jeżeli osobniki jednoroczne rosły szybciej i osiągały większą masę niż dwuletnie, to jak można wytłumaczyć istnienie w populacji osobników rozwijających się dłużej niż rok? Jaka jest korzyść z utrzymywania się takiego polimorfizmu w populacji?
 24. **Artykuł #4.** Nie rozumiem, dlaczego w analizach tempa wzrostu i czasu rozwoju uwzględniony został czynnik Liczba pokoleń w roku (Voltinism). Podział larw według liczby pokoleń w roku polegał na tym, że do jednej grupy zaliczone zostały osobniki rozwijające się i rosnące wolno, a do drugiej – szybko. A potem sprawdzano, czy te grupy różnią się między sobą czasem rozwoju i tempem wzrostu, co było przecież kryterium ich podziału... Moim zdaniem lepiej byłoby te grupy analizować osobno, co prawdopodobnie prowadziło do prostszych i łatwiejszych do interpretacji wyników (bez potrójnych interakcji w modelu), mogłoby też pozwolić na wykrycie słabszych zależności, obecnie ukrytych przez bardzo silny i oczywisty wpływ zmiennej Voltinism na wynik modelu.
 25. **Artykuł #4.** Warto zauważyć, że w podwyższonej temperaturze masa może być niższa nie tylko z powodu przyspieszonego tempa rozwoju, ale także ze względu na wyższe tempo metabolizmu podstawowego organizmów zmiennocieplnych – więcej zasobów energetycznych jest zużywanych na podtrzymanie podstawowego metabolizmu.
 26. **Artykuł #4.** Nie jestem pewny, czy zwiększona aktywność oksydazy fenolowej może być tak jednoznacznie uznana za zjawisko korzystne. Zwiększona inwestycja w reakcję immunologiczną może być odpowiedzią na niekorzystne czynniki, np. zwiększone ryzyko infekcji (przynajmniej postrzegane jako takie przez reagującego osobnika, niekoniecznie adekwatnie do nietypowej dla niego sytuacji w warunkach podwyższonej temperatury). Poza tym, taka podwyższona aktywność enzymu generuje koszty metaboliczne, co może niekorzystnie wpływać na wzrost (co widać np. w obniżonej masie osobników jednorocznych przebywających w podwyższonej temperaturze) albo wymagać intensywniejszego żerowania.
 27. **Artykuł #4.** W tym artykule Autorzy prezentują zmianę aktywności oksydazy fenolowej pod wpływem podwyższonej temperatury u larw *Ischnura elegans*. Wcześniej, w **Artykule #3**, w podobnym układzie doświadczalnym i u tego samego gatunku, takie zmiany nie zostały zaobserwowane. Powstaje pytanie: dlaczego tak było, a także dlaczego Autorzy nie skomentowali tej rozbieżności w swojej pracy?
 28. **Wstęp podsumowujący rozprawę.** W zasadzie ocenie podlega sama rozprawa, tzn. artykuły wchodzące w jej skład, a dołączony wstęp ma tylko ułatwić połączenie poszczególnych części w całość i zrozumienie spójności cyklu. Jest jednak w tym wstępie jedna rzecz, z którą chciałbym polemizować. W ostatnim głównym wniosku wypływającym z rozprawy Doktorant twierdzi, że efekt pierwszeństwa jest zależny od kontekstu (wpływu innych czynników, jak obecność drapieżnika czy zmiany temperatury) i ograniczony tylko do niektórych cech organizmów. Ale przecież **Artykuły #2 i #3**

pokazują właśnie coś odwrotnego: brak zależności, albo tylko nikłą zależność efektu pierwszeństwa od tych czynników... Ponadto, faktycznie, został on głównie wykazany dla przeżywalności larw, natomiast wcale lub w ograniczonym zakresie dla masy osobników, tempa rozwoju czy parametrów fizjologicznych. Ale przecież przeżywalność to jest właśnie ta najważniejsza cecha, kształtowana przez wszystkie inne, która weryfikuje dostosowanie osobnika (drugą składową dostosowania jest rozrodczość, ale nie dotyczy to larw, które muszą tylko przeżyć do dorosłości). Więc, jeżeli coś ma wpływ na przeżywalność, to określa też poziom dostosowania larw. Jeżeli natomiast obserwowalibyśmy wpływ efektu pierwszeństwa na wszystkie inne parametry, ale nie na przeżywanie larw, to trudno byłoby mówić o znaczącym wpływie tego zjawiska na dostosowanie osobników (chyba, że taki wpływ przejawiałby się później w płodności osobników dorosłych, ale to nie było przedmiotem badań). Tak więc, mam wrażenie, że wykryte przez Autorów rozprawy zjawisko ma większe znaczenie dla badanych organizmów, niż sami są skłonni to przyznać...

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 czynników warunkujących historie życiowe organizmów o złożonych cyklach życiowych. Szczególnie cenne są bardzo dobrze przemyślane, zaprojektowane, przeprowadzone i przeanalizowane eksperymenty pokazujące funkcjonowanie populacji słodkowodnych bezkręgowców w warunkach zmieniającego się klimatu i presji drapieżniczej. Z całą pewnością, dzięki badaniom Doktoranta i Jego zespołu, wiemy na ten temat znacznie więcej niż przedtem. 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.

Zgodnie z powyższą argumentacją stwierdzam, że **rozprawa Pana mgr. Mateusza Raczyńskiego odpowiada w pełni wymogom stawianym rozprawie doktorskiej** przez Ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Art. 187 Ustawy z 20 lipca 2018 r., Dziennik Ustaw 2018, poz. 1668, z późniejszymi zmianami). W związku z tym, wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o dopuszczenie Go do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, ze względu na bardzo wysoki poziom merytoryczny rozprawy oraz dużą wartość naukową uzyskanych wyników, co zostało potwierdzone także przez niezależnych recenzentów renomowanych czasopism naukowych, **wnioskuję o wyróżnienie rozprawy**.



Jarosław Kobak