



RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

pt. „Rola wybranych gatunków ryb jako żywicieli larw chronionej skójkii gruboskorupowej *Unio crassus* Philipsson, 1788” / „*The role of chosen fish species as hosts for larvae of the protected thick-shelled river mussel Unio crassus Philipsson, 1788*”

wykonanej przez mgr inż. Jacka Dołęgę

pod kierunkiem dr hab. Tadeusza Zajęcia, prof. IOP PAN, w Instytucie Ochrony Przyrody
Polskiej Akademii Nauk

Podstawę rozprawy doktorskiej stanowią trzy prace naukowe: dwa artykuły opublikowane w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym oraz trzecia w formie kompletnego manuskryptu przygotowanego do złożenia w redakcji czasopisma. Rozprawa liczy 44 strony, wraz z niepublikowanym manuskrytem, oraz dwa załączone opublikowane artykuły naukowe liczące razem 18 stron. W rozprawie zawarto streszczenie w języku polskim oraz angielskim. Pracę otwiera rozdział „Wprowadzenie do tematu badań” wraz z podrozdziałem „Synteza i odpowiedzi na pytania badawcze” oraz zestawieniem cytowanej w nim literatury. Następnie umieszczono załączniki. Załączono publikację nr 1 i publikację nr 2. W przypadku drugiej publikacji w moim egzemplarzu nie dołączono *Supplementary materials*, jednak wskazany w rozprawie adres internetowy umożliwił dostęp do materiałów uzupełniających. Trzecim elementem rozprawy jest niepublikowany manuskrypt wraz z dołączonymi *Supplementary materials*.

Z dołączonych do rozprawy oświadczeń współautorów wynika, że udział mgr. inż. Jacka Dołęgi w przygotowaniu poszczególnych prac był znaczący i w każdym przypadku wynosił co najmniej 50%. Na podstawie deklaracji zawartej w publikacji 1., wkład Doktoranta obejmował udział w tworzeniu koncepcji badań, realizacji prac badawczych, analizie, interpretacji i wizualizacji danych, oraz przygotowaniu publikacji. W pozostałych dwóch pracach nie odnalazłam szczegółowej informacji w formie odrębnego *Author Contribution Statement*. Niemniej jednak, zgodnie z załączonymi oświadczeniami, wkład Doktoranta obejmował wiodący udział w opracowaniu koncepcji badań, ich planowaniu, a także w gromadzeniu i analizie danych. Należy też podkreślić, że we wszystkich trzech publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem, a w dwóch z nich pełni również funkcję autora korespondencyjnego.

Głównym elementem recenzowanej rozprawy doktorskiej pt. „*Rola wybranych gatunków ryb jako żywicieli larw chronionej skójkii gruboskorupowej Unio crassus Philipsson, 1788*” autorstwa mgr. Jacka Dołęgi jest analiza zależności między małżami kompleksu *Unio crassus* a zespołem ryb stanowiącym komponent ich środowiska, obejmujący zarówno gatunki będące potencjalnymi gospodarzami, jak i gatunki nieżywicielskie. Autor analizował wzajemnie powiązane czynniki wpływające na los glochidiów: skład i liczebność zespołu ryb, ich podatność na infestację i możliwości przeobrażenia się glochidiów, oraz dostępność ryb-gospodarzy w okresie uwalniania larw.

1. Publikacja: *Evidence for dilution effect by Gobio gobio, a dead-end host in the Unio crassus–Cyprinidae coevolutionary system*

Oryginalność tej części rozprawy nie sprowadza się jedynie do wykazania, że w badaniach w warunkach laboratoryjnych, okazało się, że kiełb *Gobio gobio* nie jest kompetentnym gospodarzem dla glochidiów *Unio crassus*. Ciekawszym aspektem jest wykazanie, że gatunek niekompetentny może jednak przechwycić glochidia, co zmniejsza narażenie na infestację przez larwy mały gatunków ryb z grupy potencjalnych żywicieli (tzw. efekt rozcieńczenia, *dilution effect*). Eksperyment laboratoryjny wzmocnił interpretację wyników badań terenowych. W artykule określono *G. gobio* jako żywiciela będącego ślepym zaułkiem dla skójk (dead-end host), gdyż w warunkach laboratoryjnych przez 44 dni nie uzyskano metamorfozy glochidiów. Ograniczanie liczby glochidiów dostępnych dla gospodarzy kompetentnych przez gatunek niekompetentny wpływa na sukces reprodukcyjny mały. Ta publikacja pokazała, że struktura zespołu ryb może wpływać zarówno pozytywnie, jak i negatywnie na sukces rozrodczy *U. crassus*.

Doktorant wykazał, że znaczenie poszczególnych gatunków ryb w cyklu życiowym mały zależy również od kontekstu populacyjnego, tj. od stanu populacji mały. Przy niskim zagęszczeniu mały utrata glochidiów na rzecz nieefektywnego gospodarza może mieć relatywnie duże znaczenie, natomiast przy dużym zagęszczeniu mały większa produkcja glochidiów może częściowo kompensować te straty.

W artykule zauważyłam kilka kwestii, które wymagają dodatkowego wyjaśnienia. Prosiłabym Doktoranta o odniesienie się do nich podczas publicznej obrony rozprawy. Poniżej przedstawiam najważniejsze z nich:

- **6. akapit metodyki:** Badania w rzece Warkocz: „Każdego roku próbki ryb pobierano w trzech lub więcej okresach zbiegających się z przewidywanym szczytowym okresem uwalniania glochidiów u *U. crassus* (maj–czerwiec): 5 maja, 5 czerwca, 18 czerwca i 2 lipca 2015 r. oraz 11 maja, 9 czerwca i 24 czerwca 2016 r.” – co wskazuje na 7 terminów badań: cztery w 2015 r. oraz trzy w 2016 r. Jednocześnie Autor pisze dalej: „Ponieważ efektu rozcieńczenia spodziewano się jedynie przy dużym zagęszczeniu glochidiów, analizy ograniczono do pierwszych 10 dni czerwca w obu latach.” – taki zapis wskazuje z kolei na: 5.06.2015 i 9.06.2016, tj. 2 terminy badań, po jednym dniu w każdym roku badań. – Czy to oznacza, że pozostałe pięć terminów zostało pominiętych w analizie efektu rozcieńczenia?
- **8. akapit metodyki:** „Lokalizacja każdego schwytanego osobnika była rejestrowana podczas pobierania próbek” – Czy Autor mógłby przybliżyć tę procedurę?
- **Tabela 1:** Tabela przedstawia liczebność i zmiany w czasie występowania ryb oraz *Unio crassus* w rzece Warkocz. Wyróżniono gatunki ryb, u których stwierdzono obecność glochidiów. Dlaczego w badaniu skupiono się na kielbku, skoro 8 z 11 złowionych gatunków ryb mogło przechwytywać glochidia? Jeśli powodem były jakieś szczególne właściwości kielbka, to prosiłabym o wyjaśnienie, być może są jakieś inne powody tego wyboru. Czy ta decyzja była poprzedzona badaniami laboratoryjnymi i ich wynik o tym zdecydował, czy też najpierw wykonano badania terenowe?
- **Abstrakt:** W abstrakcie pojawia się stwierdzenie, że „obecność ryb niebędących gospodarzami przy niskim zagęszczeniu mały może zwiększać ryzyko ich wymarcia”. Jednak zakres przeprowadzonych badań nie pozwala na bezpośrednią ocenę ryzyka wymarcia populacji. W pracy nie analizowano ani parametrów demograficznych, przeżywalności osobników dorosłych, tempa rekrutacji, tempa wzrostu populacji ani prawdopodobieństwa wymarcia. Mimo wszystko, w świetle uzyskanych wyników wskazana jest większa ostrożność i raczej zamiast określenia „wymarcie” użyłabym terminów „spadek liczebności”, „zanik na stanowisku” itp.

Uzupełnieniem zbioru analizowanych danych o skójkach i ich potencjalnych żywicielach była analiza rzek w skali Polski, stanowiąca kontekst przestrzenny dla wyników uzyskanych przez Doktoranta w badaniach terenowych. Zastosowanie zaawansowanych narzędzi analizy przestrzennej w środowisku

QGIS umożliwiło integrację danych monitoringowych GIOŚ z lat 2011–2024 w jednolitym układzie przestrzennym. Te wyniki wskazały na dużą częstość występowania *G. gobio* w bezpośrednim lub bliskim sąsiedztwie stanowisk występowania *U. crassus*. To pomogło Autorowi w interpretacji własnych wyników badań.

Publikacja przedstawia oryginalne wyniki dotyczące wpływu niekompetentnego gospodarza na możliwości skutecznego rozrodu zagrożonego gatunku małży, skójk *Unio crassus*. Wartościowe jest połączenie eksperymentu laboratoryjnego, danych terenowych oraz analizy przestrzennej obejmującej obszar całej Polski. Doktorant wskazuje, że *G. gobio* może przechwytywać glochidia, nie dając im szans na metamorfozę, zaś interpretacja danych z badań terenowych sugeruje zależność zgodną z hipotezą *dilution effect*. Ograniczenia badań dotyczą przede wszystkim potencjalnej autokorelacji danych oraz stosunkowo szerokiego wnioskowania na podstawie uzyskanych danych. Jednak, mimo tych ograniczeń praca stanowi oryginalny wkład w ekologię zależności pasożyt-żywiciel i jest cennym elementem rozprawy doktorskiej Pana mgr. Jacka Dołęgi.

W interpretacji powyższych danych pojawił się jednak klasyczny problem danych monitoringowych: dane pochodzą z różnych rzek, lat i warunków środowiskowych, a także zostały zebrane przy zastosowaniu różnych technik i przez badaczy o różnym doświadczeniu terenowym. W związku z tym prawdopodobieństwo wykrycia *G. gobio* może różnić się pomiędzy stanowiskami i badaniami. Czy w takiej sytuacji brak wykazania *G. gobio* na danym stanowisku można interpretować jako jego rzeczywistą nieobecność, a następnie na tej podstawie wnioskować o występowaniu lub braku efektu rozcieńczenia (*dilution effect*) w relacji *G. gobio* – *U. crassus* w skali zlewni?

Drugie pytanie z tym związane dotyczy terminu prowadzenia odłowów. Dane monitoringowe GIOŚ pochodzą z odłowów ryb prowadzonych po 15 sierpnia, zgodnie z wytycznymi metodycznymi. Doświadczenie z odłowów w różnych terminach pokazuje, że wyniki wiosenne mogą znacznie się różnić od wyników jesienno-letnich. Jeżeli znaczenie *G. gobio* jako żywiciela larw *U. crassus* wynika z jego obecności w okresie ich intensywnego uwalniania przez małże (przełom maja i czerwca), a termin odłowów ryb wpływa na prawdopodobieństwo wykrycia *G. gobio*, to jak to wpływa na interpretację jego roli w cyklu życiowym *U. crassus*? Czy rzeczywiście kiełb ma dużą rolę w funkcjonowaniu populacji skójki w skali zlewni?

2. Publikacja: *Baltic sculpin Cottus microstomus as a host for larvae of two species belonging to Unio crassus complex: Unio crassus Philipsson, 1788 and Unio nanus Lamarck, 1819*

Publikacja dotyczy niedawno wykazanego w zlewni Wisły gatunku, tj. głowacza szczupłego *Cottus microstomus* i pogłębia wiedzę na temat relacji żywiciel-pasożyt w układzie ryba-małż. Relacje między małżami Unionidae a rybami są często silnie specyficzne i mogą być lokalnie zróżnicowane. Doktorant wychodzi poza stwierdzenie „*gatunek X jest żywicielem*” i pokazuje, że identyfikacja właściwego żywiciela musi uwzględniać biogeografię i współwystępowanie gatunków.

Eksperymenty dotyczące głowaczy jako żywicieli dla larw *U. crassus complex* prowadzono dotychczas przede wszystkim na osobnikach identyfikowanych jako głowacz białopłetwy *C. gobio*. Jednak, nie należy zapominać, że ze względu na niedawne rozdzielenie na podstawie danych molekularnych *C. gobio sensu stricto* i *C. microstomus* nie można wykluczyć, iż w części badań nad rolą *C. gobio* jako żywiciela *Unio crassus* wykorzystywano osobniki, które według obecnej nomenklatury należałoby zaliczyć do *C. microstomus*. Dotyczy to zwłaszcza badań, w których ryby pozyskiwano z obszarów obecnego występowania *C. microstomus*.

W mojej opinii wynik przeprowadzonego eksperymentu jest interesujący, ale należy ostrożnie go interpretować. Poniżej przedstawiam uwagi szczegółowe i pytania do Doktoranta.

- Str. 2., akapit 2, linijki 4-10: Autor weryfikował, czy *Cottus microstomus* jest odpowiednim żywicielem dla glochidiów kompleksu *Unio crassus*. Brakuje jednak w pracy pełniejszego 'the aim of the study' i przedstawienia hipotez badawczych.
- Str. 2., akapit 1, linijki 16-18: Autor podkreśla, że geograficzne pochodzenie ryb, dla których do tej pory inni autorzy testowali efektywność żywicieli dla *U. crassus* complex wskazuje na *C. gobio sensu stricto* jako żywiciela – moim zdaniem nie ma takiej pewności, bo wcześniej, należałoby zweryfikować lokalizacje poszczególnych stanowisk połowu ryb, a nie opierać się na nazwie gatunkowej użytej w roku publikacji artykułów (chodzi o odniesienie do prac: Douda 2013, Douda et al. 2012, oraz Taeubert et al. 2012a). Jeżeli ryby w tych wcześniejszych badaniach pochodziły z dorzeczy, które obecnie, po rewizji taksonomicznej, przypisuje się gatunkowi *C. microstomus*, to te literaturowe dane należałoby potraktować inaczej w dyskusji własnych wyników.
- Str. 2., akapit 5, linijki 10-11: Doprecyzowania wymaga informacja, że głowacz szczupły *C. microstomus* jest jedynym gatunkiem *Cottus*, zamieszkującym dorzecze Wisły. Głowacz pręgopłetwy, tradycyjnie określany jako *Cottus poecilopus*, również występuje w dorzeczu Wisły, jednak w nowszych ujęciach taksonomicznych został przeniesiony do rodzaju *Alpinocottus*. Dobrze byłoby zaznaczyć tę zmianę nomenklatury, aby uniknąć błędnej interpretacji, która może prowadzić do przekonania, że głowacz pręgopłetwy nie występuje w dorzeczu Wisły.
- Materiały i metody: Autor podaje szczegółowo czas trwania poszczególnych etapów eksperymentu, ale nie udało mi się znaleźć informacji dotyczącej daty, roku / miesiąca odłowu ryb i pozyskiwania małży.
- Str. 2., akapit 3, linijki 3-5: Dlaczego *P. phoxinus* został wybrany jako gatunek referencyjny? Proszę to wyjaśnić.
- Str. 2., akapit 3, linijki 11-15: Autor pozyskał do eksperymentu pięć samic małży należących do kompleksu *U. crassus*, 11 okazów *P. phoxinus* oraz 11 okazów *C. microstomus*. Dokonano infestacji tych ryb w warunkach kontrolowanych i oceny możliwości przeobrażania się glochidiów. Procedura ta była powtarzana (str. 4., akapit 1., linijki 20-23). Prezentowane dane potwierdzają, że wielokrotnie sprawdzano przeobrażenie glochidiów. Domyślam się, że u tych samych ryb. Jeżeli jedna ryba była badana w kilku terminach, te obserwacje są ze sobą związane. Autor zastosował model powtarzanych pomiarów i wyjaśnił, że „Efekt losowy uwzględniono w celu uwzględnienia potencjalnych różnic między osobnikami ryb, wynikających z wcześniejszego nabycia odporności na glochidia, kondycji osobnika, intensywności zarażenia lub innych niekontrolowanych czynników...” (str. 4, akapit 2, linijki 9-13). W związku z tym pojawiają się pytania wymagające doprecyzowania:
Ile razy ten sam osobnik ryby był poddawany infestacji glochidiami, a tym samym ile razy oceniano możliwość ich przeobrażenia na tym samym osobniku? Jaki był czas odpoczynku/regeneracji ryb od momentu przeobrażenia się glochidiów i opuszczenia ciała ryby do momentu następnej infestacji? Czy w tym okresie oceniano powrót kondycji ryb do stanu wyjściowego? W jakim stopniu w kolejnych infestacjach mogło ujawniać się nabywanie odporności/tolerancji gospodarza na glochidia, a w jakim pogorszenie kondycji ryb będące następstwem wcześniejszej glochidiozy?
- Str. 2., akapit 4, linijki 16-17: Autor w opisie metod informuje, że ryby mierzono z dokładnością do 1 mm (czyli dokładnie), natomiast, ku mojemu zaskoczeniu, bezpośrednie dane dotyczące masy ciała ryby nie zostały zebrane (...) lecz: str. 2., akapit 4, linijki 17-21: „masę ciała obliczono przy użyciu równania zależności długości od masy ze współczynnikami specyficznymi dla gatunku lub rodziny, określonymi przez Froese i in. (2014)”. Szkoda, że 22 ryb nie zważono, nie byłoby to przecież trudne a dane o masie ciała dokładniejsze. Zwłaszcza, że masa ciała nie jest w pracy tylko dodatkową cechą opisową, lecz została wykorzystana w analizie statystycznej; co pokazuje, że Autor sam uznał masę ryby za potencjalnie istotną zmienną wyjaśniającą. I słusznie, bo masa osobnika odzwierciedla kondycję ryby

i może potencjalnie wpływać na intensywność infestacji, oraz sukces przeobrażenia glochidiów. Jednak oszacowanie masy na podstawie literaturowej zależności długość-masa może nie odzwierciedlać rzeczywistej kondycji konkretnych, odłowionych w ciekach osobników. Prosiłabym o uszczegółowienie, czy dla *C. microstomus* zastosowane współczynniki opierały się na empirycznych danych dotyczących zależności długość-masa odnoszących się dokładnie do tego gatunku, czy też zastosowano wartości modelowe wyprowadzone na podstawie danych dotyczących taksonów pokrewnych i/lub podobieństwa budowy ciała poziomie rodziny, tj. „(Sub)family-body shape”. Prosiłabym też Autora o ocenę, w jakim stopniu zastosowanie wartości modelowych zamiast rzeczywistych pomiarów masy mogło wpłynąć na wyniki analizy.

- Str. 4., Results, akapit 1, linijki 2-4: Autor wykorzystał materiał pochodzący z mieszanej populacji *U. crassus sensu stricto* i *U. nanus*, zatem nie można z całą pewnością stwierdzić, że *Cottus microstomus* jest żywicielem larw *Unio crassus*. Autor w dyskusji ostrożnie formułuje wniosek, że *C. microstomus* jest odpowiednim gospodarzem dla jednego lub obu gatunków kompleksu. Ale jednocześnie, choć prawidłowo identyfikuje ograniczenia materiału, nie uwzględnił tego ograniczenia konsekwentnie w prezentacji wyników (W kilku miejscach Autor posługuje się nazwą gatunkową *U. crassus*, tak, jak gdyby tożsamość gatunkowa glochidiów wykorzystanych w eksperymencie była jednoznaczna (przykładowe fragmenty: *At the site of sympatric occurrence of P. phoxinus and U. crassus...*; *Five gravid females of U. crassus were transported in a box with fresh...*; *At the time of the original study, all specimens were assigned to U. crassus according to the taxonomy then in use...*; *The first transformed, viable juveniles of U. crassus were collected from both species; Days from exposition of fish to U. crassus glochidia*). Taki sposób opisu wyników może prowadzić do nadinterpretacji, ponieważ w wielu miejscach użyto nazwy *U. crassus* w sposób sugerujący, że eksperyment dotyczył jednoznacznie tego gatunku, mimo że materiał wyjściowy pochodził z populacji mieszanej. Autor przeprowadził molekularną weryfikację taksonomiczną gatunków z kompleksu *U. crassus* z rzeki Warkocz, ale już nie weryfikowano przynależności gatunkowej pozyskanych do eksperymentu samic. Pytanie do Autora: Czy nie rozważał molekularnej identyfikacji w trakcie eksperymentu juwenilnych małży pochodzących od ryb? Być może wtedy problem małży użytych w eksperymencie i ich przynależności gatunkowej zostałby wyeliminowany, a wnioski wzmocnione.
- Kolejne przykłady wyżej wspomnianej niekonsekwencji stosowanej terminologii można znaleźć w dyskusji (przykładowe fragmenty, str. 6: *At the same time, following the recognition of a new potential fish host species, C. microstomus, we demonstrated successful transformation of larvae attributed to U. crassus in the traditional sense; The results of the statistical model indicate, that overall transformation of U. crassus/nanus larvae on C. microstomus*).
- Str. 6., akapit 5, linijki 1-4: Część dyskusji uzyskanych wyników, tj. fragment: „Wyniki modelu statystycznego wskazują, że ogólne przeobrażenie larw *U. crassus/nanus* na *C. microstomus* nie różniło się istotnie od tej zaobserwowanej na dobrze znanym gatunku gospodarza *P. phoxinus*”, może sugerować, że *C. microstomus* może być uznany za równie efektywnego gospodarza jak *P. phoxinus*. Uzyskana wartość $p = 0,501$ (str. 5, akapit 1, linijka 1: $F(1, 119) = 0.46, p = 0.501$), oczywiście nie stanowi podstawy do stwierdzenia, że oba gatunki są równie efektywnymi gospodarzami, a jedynie to, że nie odnotowano statystycznie istotnej różnicy w danym projekcie badawczym i przyjętej liczebności próby. W związku z tym, prosiłabym o wyjaśnienie: Czy Autor jest w stanie ocenić *C. microstomus* jako równie/mniej/bardziej efektywnego gospodarza w porównaniu do *P. phoxinus*?
- Str. 6., akapit 4, linijki 17-20: W publikacji znajduje się wniosek, że „można z pewnością stwierdzić, że zachowanie *C. microstomus* może przyczyniać się do przetrwania współwystępujących członków kompleksu *U. crassus*: *U. crassus* i *U. nanus*”; oraz, że: Str. 7., akapit 2, linijki 1-3: „*C. microstomus* jest skutecznym gatunkiem żywicielskim dla jednego lub obu gatunków z kompleksu *U. crassus* występujących w Polsce (*U. crassus* i/lub *U. nanus*).” Jeżeli samice małży zebrane do eksperymentu

pochodziły z populacji mieszanej *U. crassus* i *U. nanus* i nie zostały oznaczone do gatunku, to nie wiadomo, który osobnik macierzysty należał do *U. crassus*, a który do *U. nanus*. Jeżeli glochidia pochodziły z populacji mieszanej, to nie można przypisać zaobserwowanego efektu każdemu z tych gatunków osobno. W związku z tym ww. zapisy, podobnie jak tytuł publikacji, są zbyt kategoryczne (tytuł powinien kończyć się w miejscu dwukropka "*Baltic sculpin Cottus microstomus as a host for larvae of two species belonging to Unio crassus complex*"). Prosiłabym Autora o odpowiedź na pytanie nawiązujące do tytułu recenzowanej rozprawy: Jaki praktyczny wniosek dla ochrony *Unio crassus* wynika z przeprowadzonego badania?

- o Jak każde badanie naukowe, również oceniana publikacja wiąże się z określonymi niepewnościami i ograniczeniami. W tym przypadku warto jednak zwrócić uwagę na kilka poruszonych powyżej kwestii metodologicznych i interpretacyjnych, które mogą mieć znaczenie dla zakresu i siły formułowanych przez Autora wniosków w przyszłych, kolejnych opracowaniach naukowych. Gdyby Doktorant miał przeprowadzić ten eksperyment jeszcze raz, co zmieniłby?

Podsumowując, Autor w publikacji podkreśla, słusznie, że prawidłowa identyfikacja gatunków ryb-gospodarzy ma zasadnicze znaczenie dla interpretacji wyników dotyczących relacji gospodarz-pasożyt (str. 2, akapit 2, linijki 1-3) zwłaszcza w świetle kolejnych rewizji taksonomicznych ujawniających obecność wcześniej nierozpoznanej różnorodności. Odnosząc się do wcześniejszych publikacji dotyczących relacji ryba-gospodarz i małży z kompleksu *U. crassus*, oraz literatury, która traktowała pokrewne głowacze jako jeden gatunek, tj. bez rozdzielania *C. gobio* i *C. microstomus*, badanie wypełnia lukę w wiedzy dotyczącej specyficzności ryb-gospodarzy. Ma ono znaczenie zarówno dla ekologii interakcji międzygatunkowych, jak i ochrony przyrody. Mimo wskazanych ograniczeń przeprowadzonych badań, publikacja stanowi wartościowy oraz oryginalny wkład w poznanie biologii małży należących do kompleksu *Unio crassus* i jest cennym elementem rozprawy doktorskiej Pana mgr. Jacka Dołęgi.

3. Manuskrypt: Host fish availability for the *Unio crassus* complex during the glochidia release period

Dwie pierwsze publikacje odpowiadają na pytania dotyczące relacji małży z rybami, tj. które gatunki mogą pełnić funkcję gospodarzy oraz które mogą ograniczać dostępność glochidiów dla gospodarzy. Trzeci manuskrypt stanowi uzupełnienie tego obrazu, podejmując kolejny problem, tj. próbuje ocenić, w jaki sposób rzeczywista struktura zespołu ryb może wpływać na rekrutację populacji *Unio crassus* complex. Dzięki temu oceniana rozprawa nie ogranicza się do identyfikacji pojedynczych gatunków gospodarzy i ryb nieżywielskich, lecz ukazuje znaczenie całego, dynamicznie zmieniającego się zespołu ryb dla funkcjonowania populacji małży.

- o We wstępie Autor porusza wiele ważnych wątków – koewolucję, ryzyko kaskady wymierania, koewolucję rozproszoną, pulę żywicieli dla małży, ich dostępność czasową i przestrzenną, dyspersję, stabilność zespołów ryb, czy monitoring. W konsekwencji w tym rozdziale Autor przedstawia kilka powiązanych problemów, ale trudno jest jednoznacznie ocenić, jaki jest dokładnie główny cel i hipotezy w tej pracy.
- o Str. 4, linijki 72-75: Autor podkreśla, że w Europie standardowe metodologie badań ichtiologicznych wymagają połowów ryb pod koniec sezonu, w związku z tym wyniki badań pochodzące z monitoringu ryb nie dostarczają informacji o gatunkach ryb, które są faktycznie dostępne do zarażenia w okresach uwalniania glochidiów przez skórki – tu Autor powinien zacytować swój artykuł opublikowany w Scientific Reports, dotyczący „efektu rozcieńczenia” larw skórek przez nieżywielskie gatunki ryb, oraz odnieść się do wyników przedstawionych w tej pracy, odpowiednio je komentując.

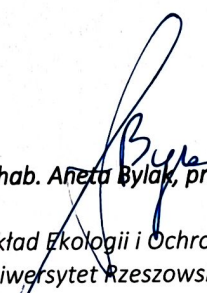
- Str. 4, linijki 81-83, oraz 423-426: Autor powołuje się na rozbieżność między systemami monitoringu ryb i małży w wielu krajach europejskich i zaleca, żeby monitoring małży słodkowodnych skoordynować z monitoringiem ryb, aby dostarczyć informacji o wpływie składu zespołu ryb na populacje małży. Moim zdaniem raczej nie da się tego sprzęgnąć w czasie, ze względu na konieczność takiego dostosowania terminów połowów ryb, aby uchwycić najmłodsze ryby (0+) w połowach monitoringowych; stąd zalecenie ekspertów zapisane w metodyce monitoringu GIOŚ, aby prowadzić połowy w okresie od 15 sierpnia. Dla skójki gruboskorupowej (*Unio crassus*) GIOŚ rekomenduje termin monitoringu „lato-wczesna jesień”, co również wydaje się rozmijać z czasem, kiedy małże najintensywniej wyrzucają glochidia do wody (własne analizy koncentracji glochidiów Autor ograniczył nawet do pierwszych 10 dni czerwca). Problem, jak zauważył Autor, jest rzeczywiście bardzo złożony. Nie wystarczy bowiem zsynchronizować terminów monitoringu w ujęciu organizacyjnym, lecz jeszcze zsynchronizować je z fenologią okresu reprodukcyjnego małży. Tym bardziej wartościowe są badania podjęte przez Autora, które próbują wypełnić tę lukę, dostarczając informacji o składzie i dostępności zespołów ryb właśnie w okresie najistotniejszym z punktu widzenia czasu uwalniania glochidiów.
- Str. 4, linijki 86-87: Autor pisze: „*Chcemy odpowiedzieć na te pytania...*”, ale prosiłabym o ich przywołanie i/lub doprecyzowanie pytań podczas obrony.
- Str. 6, linijka 130: „osobniki skójki gruboskorupowej były indywidualnie znakowane w poprzednim roku” – proszę o doprecyzowanie, jaką techniką?
- „próbki ryb pobierano za pomocą sieci” (Str. 7, linijka 147); „ryby odławiano dwiema metodami połowu elektrycznego: połowem elektrycznym z łodzi przy użyciu stacjonarnego agregatu prądotwórczego zasilanego benzyną oraz połowem elektrycznym” (Str. 9, linijka 184-185) - Prośba do Autora o odniesienie się do różnych technik połowu ryb, które mogą przekładać się na różnice w zagęszczeniach i liczbie odłowionych osobników, a tym samym np. na ocenę ich dostępności jako potencjalnych żywicieli glochidiów.
- Tabela 3: jeżeli narybek karpiowatych Cyprinidae został uwzględniony przy opisie całych zespołów ryb i obliczaniu procentowego udziału gatunków, to powinien być również pokazany w tabeli. W obecnej formie tabela nie jest przejrzysta.
- Str. 16, linijka 281-285: „*L. cephalus* (...) dostarczył również największej liczby rejestracji i obejmował największą liczbę wykrytych osobników spośród wszystkich oznakowanych gatunków” - Prosiłabym o podanie rzeczywistej liczby rejestracji odpowiadającej temu stwierdzeniu, co pozwoliłoby lepiej ocenić moc uzyskanego wyniku. Nie jest to zarzut, jednak relatywnie niewielka liczba detekcji w stosunku do liczby oznakowanych osobników dobrze ilustruje ograniczoną możliwość ponownego wykrycia ryb, co może wynikać m.in. z ich mobilności i przemieszczania się poza obszar objęty badaniem. Wynik ten dobrze pokazuje również ogromną trudność prowadzenia badań ichtiofauny w rzekach. Tym bardziej należy docenić próbę podjętą przez Autora, aby na podstawie takich danych powiązać skład i rozmieszczenie zespołów ryb z potencjalnymi możliwościami rozrodczymi skójki gruboskorupowej. Jest to ambitne i metodologicznie wymagające zadanie, a uzyskane wyniki stanowią wartościowy wkład w dyskusję nad rolą ryb w rekrutacji i rozprzestrzenianiu *Unio crassus*.
- *L. cephalus* vs. *S. cephalus* - nazwa naukowa klenia jest w pracy stosowana niekonsekwentnie; wymaga ujednolicenia w całym manuskrypcie
- Str. 19, linijka 317-319: „*Schneider i in. (2019) stwierdzili, że 99% ryb występujących w okresie przetrzymywania glochidiów przez samice małży należało do dwóch gatunków żywicielskich: Gobio gobio i Phoxinus phoxinus* - Proszę o weryfikację identyfikacji gatunku *Gobio gobio* w tym zdaniu. Czy w cytowanej pracy (Schneider et al. 2019) rzeczywiście wskazano *G. gobio*, czy też chodziło o *Cottus gobio*? Jest to istotne, ponieważ *Gobio gobio* w jednej z prac Autora (Sci. Rep., 2026) został wskazywany jako żywiciel nieefektywny dla skójki.

- o Str. 22, linijka 416-418: Autor w dyskusji wyników stwierdza: „Jeśli przyjmujemy, że zarażenie ma charakter bierny, a liczba zarażonych ryb jest proporcjonalna do ich całkowitej liczebności, to wyginiecie *P. phoxinus* lub *S. cephalus* doprowadziłoby do drastycznego pogorszenia sytuacji demograficznej małży” - To dość dramatyczna wizja przyszłości. Czy Autor rzeczywiście zakłada realne ryzyko wymarcia strzebli potokowej lub klenia?

Podsumowanie

Mgr inż. Jacek Dołęga wykazał, że sukces rozrodczy małży należących do *U. crassus* complex jest silnie zależny od lokalnych, dynamicznie zmieniających się warunków, co ma duże znaczenie dla wczesnego rozpoznania zagrożeń oraz planowania skutecznych działań ochronnych. Rozprawa poszerza wiedzę z zakresu ekologii i biologii małży słodkowodnych oraz o interakcji pasożyt-żywiciel. Realizacja badań dających podstawę do przygotowania rozprawy doktorskiej pozwoliła mgr. inż. Jackowi Dołędze nie tylko poszerzyć kompetencje merytoryczne, lecz także zdobyć praktyczne umiejętności w zakresie prowadzenia badań terenowych i laboratoryjnych, planowania i projektowania eksperymentów oraz organizacji i realizacji prac badawczych. Na uznanie zasługuje łączenie wiedzy z zakresu taksonomii i z umiejętnością identyfikacji zarówno ryb jak i małży. Zdobyta wiedza i doświadczenie będą stanowić solidną podstawę dalszego rozwoju naukowego Autora. Zalecam jedynie w przyszłości większą ostrożność w interpretacji wyników i wyraźniejsze uwzględnianie ograniczeń zastosowanej metodyki przy formułowaniu wniosków. Nie umniejsza to wartości recenzowanej rozprawy doktorskiej, lecz wskazuje na potrzebę precyzyjniejszego oddzielania wniosków wynikających bezpośrednio z badań od interpretacji wykraczających poza zakres uzyskanych danych.

W konkluzji stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pana mgr. inż. Jacka Dołęgi spełnia warunki określone w art. 187 ust 1 i 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce oraz odpowiada wymaganiom stawianym rozprawom doktorskim w dziedzinie nauki ścisłej i przyrodniczej i dyscyplinie nauki biologiczne. Na tej podstawie wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie Kandydata do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.


dr hab. Aneta Bylak, prof. UR

Zakład Ekologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Rzeszowski