

April 2016

International journal of science

nejczer

<http://www.eko.uj.edu.pl/phd/>

Methodological workshop

Evolutionary
biology - projects
writing



Global warming

Fish populations
in Baltic Sea

International transport

Plants seeds spreading

Cannibalism

Impact of natural selection

Warsztaty metodologiczne biologia ewolucyjna – część projektowa

Methodological workshop evolutionary biology – projects writing

Ochoznica Górna

April 2016

Technical editor: Ewelina Klichowska

Photos: Magdalena Suchora, Michał Kobińska & Joanna Rutkowska

Drawings: Michał Kobińska

Cover: Ewelina Klichowska

Contents

1. PARTICIPANTS	2
1.1. STAFF	2
1.2. PHD STUDENTS.....	2
2. REVIEWERS	4
3. RESEARCH TOPICS	4
3.1. RESEARCH TOPICS PROPOSED BY PARTICIPANTS	4
3.2. CHOSEN TOPICS	4
4. PROJECTS AND REVIEWS.....	5
4.1. THE EFFECT OF CLIMATE WARMING ON FISH POPULATIONS IN BALTIC SEA	5
4.1.1. FIRST VERSION OF PROJECT	5
4.1.2. REVIEWS	11
4.1.3. FINAL VERSION OF PROJECT	16
4.2. CZY ŻABY ZJADAJĄ SWOJE POTOMSTWO? KANIBALIZM U RANA TEMPORARIA	23
4.2.1. FIRST VERSION OF PROJECT	23
4.2.2. REVIEWS	30
4.2.3. FINAL VERSION OF PROJECT	36
4.3. BŁOTO NA NADKOLACH MIĘDZYNARODOWYCH SAMOCHODÓW TRANSPORTOWYCH JAKO ŹRÓDŁO NASION ROŚLIN	43
4.3.1. FIRST VERSION OF PROJECT	43
4.3.2. REVIEWS	48
4.3.3. FINAL VERSION OF PROJECT	56
5. PHOTO GALLERY	62

1. PARTICIPANTS

1.1. STAFF



Coordinator & Instructor

dr hab. Joanna Rutkowska –
Institute of Environmental
Sciences, Jagiellonian University
in Kraków;
joanna.rutkowska@uj.edu.pl

Observer

dr Magdalena Suchora – Department
of Hydrobiology, University of Life
Sciences in Lublin;
magda.suchora@gmail.com

1.2. PHD STUDENTS

„FISH” Team



Weronika Banot – Institute of
Environmental Sciences,
Jagiellonian University in Kraków;
weronika.banot@doctoral.uj.edu.pl

Michela Corsini – Centre of New
Technologies, University of
Warsaw;
m.corsini@cent.uw.edu.pl

„FROG” Team



Ewelina Klichowska – Institute
of Botany, Jagiellonian
University in Kraków;
ewelina.klichowska@uj.edu.pl

Michał Kobiałka – Institute of
Zoology, Jagiellonian University
in Kraków;
michal.kobiałka@uj.edu.pl

„TRANSPORT” Team



Patryk Komur – Institute of
Botany, Jagiellonian University in
Kraków; patryk.komur@uj.edu.pl

Aleksandra Rysiewska – Institute
of Zoology, Jagiellonian
University in Kraków;
a.rysiewska@uj.edu.

2. REVIEWERS

Prof. dr hab. Adam Łomnicki – Institute of Environmental Sciences, Jagiellonian University in Kraków

Mgr Dorota Lutyk – Institute of Environmental Sciences, Jagiellonian University in Kraków

and workshop participants...

3. RESEARCH TOPICS

3.1. RESEARCH TOPICS PROPOSED BY PARTICIPANTS

1. Creation of mycorrhiza by trees in terrain under influence of fungicides used in plantations (Patryk)
2. Wpływ szerokości geograficznej na wielkość i barwę muszli ślimaków (Ola)
3. Is the space use of individuals correlated with hierarchic traits? (Michela)
4. Whether dietary habits of alien herbivorous insects change with increasing geographical range of distribution (Ewelina)
5. Does the common water frog eat its offspring (Michał)
6. How are marine fishes affected by climate change (Weronika)
7. Mud on international transport cars as a source of pollen and seeds of plants (Patryk)
8. Czynniki wpływające na poruszanie się ślimaków z muszlą i bez muszli (Ola)
9. Are the winter feeding stations a good compromise between forestry management and the population survival (Michela)
10. How the substances secreted by *Juglans regia* can affect soils microorganisms (Ewelina)
11. Is there any other function of evisceration apart from defence against predators in sea cucumber (Michał)
12. The impact of pastures species composition on milk components of sheeps (Weronika)
13. The mechanism and function of fungal bioluminescence (Patryk)
14. Wpływ umaszczania kotów na sukces adopcyjny (Ola)
15. Whether the degree of exploration of birds differs between urban and rural habitats (Michela)
16. Predicting size of mosquito population based on environmental conditions (Ewelina)
17. Is it possible to get flat fish with eyes on both sides? (Michał)
18. Reasons for decline of fire salamander in Polish Tatra mountains (Weronika)

3.2. CHOSEN TOPICS

5. Does the common water frog eat its offspring (Michał)
6. How are marine fishes affected by climate change (Weronika)
7. Mud on international transport cars as a source of pollen and seeds of plants (Patryk)

4. PROJECTS AND REVIEWS

4.1. THE EFFECT OF CLIMATE WARMING ON FISH POPULATIONS IN BALTIC SEA

Authors: Weronika Banot & Michela Corsini

4.1.1. FIRST VERSION OF PROJECT

Abstract

Climate change has a strong influence on organisms which could answer in several ways: since 1990s, several studies outlined how this phenomenon modifies biogeographical distribution, physiology and behavior of animal species. Climate change consequences are complex as they involve not only ecological aspects, but also social and economic interests: this is particularly evident in fish populations.

Even if many studies have been conducted in both terrestrial and aquatic environments, not many described this problem on Baltic Sea fish populations. Our project will analyze the consequences of increased temperature on physiological traits (grow rate and body mass) of three different fish species which breed in the Baltic Sea: the round goby (*Neogobius melanostomus*), the atlantic herring (*Clupea harengus*) and the atlantic cod (*Gadus morhua*) and biogeographical distribution of invasive-alien species.

First key point of this study is to understand whether all of these three species show growth rate alterations after their exposition to an increased level of temperature. In particular, the individuals caught in the wild will be relocated to the lab under specific temperature conditions and their body weight and length will be measured during the first two years of the experiment. Additionally, historical data will be analyzed to study the global warming effect on fish populations. Another aim of the project will allow us to examine whether the increased level of temperature facilitates the spread of invasive-alien species in nature: to obtain this result, we plan to involve the main fisheries companies of the Baltic Sea, in order to collect data about alien species observed, number of individuals and their geographical distribution.

We predict a reduced growth rate and reduced body mass in response to the increased temperature and we expect a spread of invasive-alien species in the Baltic Sea areas which show higher temperature degrees.

Aim of the project

The project aims at testing whether the increase of water temperature has an important influence on fish physiology: in particular, our study will focus on body sizes measurements and the biogeographical shift given by the water warming phenomenon (Draufesne et al.2009) in the Baltic Sea. Recent studies outlined how the global warming event has important consequences on both exploited and non-exploited Northern Sea fishes, which started to show boundary shifts on their distribution. Furthermore, species with shifting distributions have shorter life cycles which cause a general decrease of their body sizes in comparison to non-shifting species (Perry et al, 2005). This last passage implicates an important effect at economical scale (food sources are lower). In our study, we decided to capture some individuals from the field and conduct the experiment in the laboratory. Our data will be collected for three different fish species, which

have been already used in the past to conduct experiments in captivity. (Checkley 1982, Chotkowski & Marsden 1999, Gildberg & Mikkelsen 1998).

We decided to study fishes in the Baltic Sea as the results of research which were done in other water bodies may be different in this sea due to its specific conditions. It is characterized by low salinity and shallow water; furthermore, it is considered one of the most polluted seas in the world (GIOS 2014). Moreover, Baltic populations of some widely caught fishes are considered distinct subspecies, e.g. the Baltic herring *Clupea harengus membras* (Froese 2016).

In our project, the following aspects will be studied:

- (i) fish growth rates in response to the exposition to different levels of temperature in a laboratory experiment,
- (ii) analyses of historical measurements of fish species caught in the Baltic Sea and the accompanying water temperature changes,
- (iii) alien species occurrence with correlation to temperature conditions.

We predict reduced growth rates and reduced body mass, according to the temperature-size rule (Atkinson 1994). In terms of alien species, we expect that an increased level of temperature will promote species originating from warmer (e.g. Mediterranean Sea) waters to enter the Baltic Sea, as in the case of recent appearance of round goby (Skóra and Stolarski 1993); however, the mentioned low salinity may impede this effect.

Significance of the project

Climate warming, observed throughout last decade, leads to change in conditions of life in the waters. This has physiological and zoogeographical implications. Temperature rising, besides having a direct influence on organisms, leads to decline of oxygen amount in water by reducing its solubility. This may promote smaller body size in fishes, according to the temperature-size rule (Atkinson 1994). A study conducted in the North Sea shows that in six of eight economically important fish species body size, and resulting yield, was reduced within last 40 years, which was accompanied by 1-2°C increase in water temperature (Baudron et al. 2014). According to research, early life stages are the most sensitive to temperature increase in terms of determining body size (Baudron et al. 2014, Forster et al. 2011). Kristiansen et al. (2014), basing on performed modelling, predict that population of atlantic cod (*Gadus morhua*) will undergo decline in body size as well as higher mortality as an indirect result of temperature increase, which will act through decrease in the larvae nourishment, zooplankton.

The zoogeographical consequences observed so far encompass shifts in species ranges towards the North in the Northern Hemisphere (Rijnsdorp et al. 2009). This leads sometimes to appearance of tropical species in temperate zones, as noted e.g. at the Azores Islands coast (Afonso et al. 2013). There are also some predictions concerning Baltic Sea fishes (MacKenzie 2007), stating e.g. that, due to altered predator-prey interactions, the population of atlantic cod will decrease. They are warning that climate change may result in collapse of some fish species, as happened already with dab (*Limanda limanda*) and plaice (*Pleuronectes platessa*) in central Baltic. Thus, it is worth checking how the populations are changing through time. However, some Baltic species, such as sprat (*Sprattus sprattus*) are predicted to benefit from increasing water temperature (MacKenzie 2004).

General concept of the research and experimental design

We plan to organize the study for three years. It will be set in the following parts:

We will start by settling the laboratory experiment. The experiment will allow us to observe the growth rate of fishes kept in two different temperature conditions. The fish will be caught from

the wild and then kept in aquaria for two years. This will allow us to observe only the direct effect of temperature on fish organism and not the indirect effect present in nature which includes impact of temperature on the species that fish feed on. We decided to use three fish species as models of this project:

- The atlantic cod (*Gadus morhua*) is a common fish in Baltic Sea; however, the western population is strongly affected by the overfishing phenomenon.
- The atlantic herring (*Clupea harengus*) is one of the most abundant fish species in the world: it is common on both sides of the Atlantic Ocean. The Baltic population is considered a distinct subspecies - Baltic herring *Clupea harengus membras* (Froese 2016).
- The round goby (*Neogobius melanostomus*) is a fish species native to Central Eurasia including both the Black Sea and the Caspian Sea. Round gobies are invasive alien species which have also established large populations in the Baltic Sea after some accidental and intentional introductions (Skóra and Stolarski 1993).

The results of this part will be analyzed and published during the third year of the study.

We will also collect data about field populations in two aspects:

During the first year of the project, we will analyze the historical data about fisheries in the Baltic Sea obtained from the Statistical Yearbooks of Maritime Economy which will consider yearly yield size for each species in the last 20 years and the sea water temperature throughout this time, obtained from oceanology databases. The results will be published during the second year of the project.

To obtain information about alien species in the Baltic Sea, questionnaires will be given to fishery companies. The forms will include questions about species name, the number, date and place of caught individuals. For unrecognized individuals, we will require a picture, based on which we will determine the species. This data will be collected during the first two years of the project and analyzed and published in the last year.

We plan to take part in two conferences, in the second and third year, to present the obtained results: in 2018 the International Conference on Fisheries, Aquaculture Economics and Seafood Trade in Prague and in 2019 the International Conference on Climate Change and Global Warming in Paris.

5. Research methods

5.1. Laboratory experiment

The larvae will be caught from the wild populations living the Baltic Sea in May with help of the Institute of Oceanography of the University of Gdańsk in Poland. The larvae from each species will be then placed randomly into 30 l aquaria to obtain the number of 20 larvae per aquarium, 5 aquaria per each temperature regime. This will result in the total number of 30 aquaria. The fish will be fed ad libitum with dry pellet.

We will obtain data from last year concerning the temperature in water regions where our species of interest are caught, including the seasonal fluctuations. Based on that we will set the temperatures in our experiment. They will resemble the fluctuation pattern and in the “colder” aquaria the temperature will be shifted -1°C and in the “warmer” aquaria $+1^{\circ}\text{C}$ comparing to natural conditions. To achieve this, we will use thermostates.

The measurements will be taken weekly. Random sample of 10 specimens from each aquarium will be measured for body length and mass. Measurements from each aquarium will be used to calculate the arithmetic means for body length and mass.

The weight will be measured on digital balance. The fish will be placed on a balance in a small water container of known weight. The total length (from pinch mouth to pinch tailpin) will be measured by putting a fish to a scale and taking a picture with a digital camera on a tripod.

5.2. Field data collection

The questionnaires will be managed by the Internet. The analyzes of questionnaires about alien species will be accompanied by analyzes of monthly average water temperature in the regions of fishing, obtained from oceanology databases.

5.3. Statistical analyses

We will calculate growth rates in each temperature regime from the gain of length and mass (treated separately) observed every week. We will analyse this measurements of growth rates with GLM (general linear model) with temperature as a fixed explanatory variable, aquarium as a random explanatory variable, the interaction of temperature and aquarium and growth rate (considered as body length (mm) or body mass (g), respectively), as respond variables.

For the data concerning yield in the Baltic Sea, we will perform GLM for each species separately, with yield in a year as a respond variable and mean water temperature in a year as random explanatory variable.

For the data concerning alien species occurrence, we will calculate the Spearman rank coefficient, the monthly average temperature will be correlated with the number of occurrences and the number of species (Afonso 2013).

References

- Afonso P., Porteiro F. M., Fontes J., Tempera F., Morato T., Cardigos F., Santos R. S., New and rare coastal fishes in the Azores islands: occasional events or tropicalization process?, *Journal of Fish Biology* 2013, nr 83, ss. 272–294
- Atkinson, D. Temperature and organism size – a biological law for ectotherms. *Advances in Ecological Research*, 1994. 25,1–58.
- Baudron A. R., Needle C. L., Rijnsdorp A. D., Marshall T. C., Warming temperatures and smaller body sizes: synchronous changes in growth of North Sea fishes, *Global Change Biology* 2014, 1023–1031
- Forster, J., Hirst, A. G. and Atkinson, D., How do organisms change size with changing temperature? The importance of reproductive method and ontogenetic timing. *Functional Ecology*, 2011, 25: 1024–1031. doi:10.1111/j.1365-2435.2011.01852.x
- Froese R. & Pauly D. (eds) (2016). FishBase (version Jan 2016). In: Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 25th March 2016 (Roskov Y., Abucay L., Orrell T., Nicolson D., Kunze T., Flann C., Bailly N., Kirk P., Bourgoin T., DeWalt R.E., Decock W., De Wever A., eds). Digital resource at www.catalogueoflife.org/col. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-8858
- GIOS Raport o stanie środowiska w Polsce 2014. Warszawa: Główny Inspektorat Ochrony Środowiska, 2014, series: Biblioteka Monitoringu Środowiska
- Kristiansen T., Stock C., Drinkwater K. F., Curchitser E. N., Mechanistic insights into the effects of climate change on larval cod, *Global Change Biology* 2014, doi: 10.1111/gcb.12489

MACKENZIE, B. R., GISLASON, H., MÖLLMANN, C. and KÖSTER, F. W., Impact of 21st century climate change on the Baltic Sea fish community and fisheries. *Global Change Biology* 2007, 13: 1348–1367. doi:10.1111/j.1365-2486.2007.01369.x

MacKenzie, Brian R., and Friedrich W. Köster. "Fish production and climate: sprat in the Baltic Sea." *Ecology* 2004 85.3: 784-794.

McCormick, Mark I., and Brett W. Molony. "Influence of water temperature during the larval stage on size, age and body condition of a tropical reef fish at settlement." *Marine ecology progress series*. Oldendorf 1995, 118.1: 59-68.

Adriaan D. Rijnsdorp, Myron A. Peck, Georg H. Engelhard, Christian Möllmann, and John K. Pinnegar, Resolving the effect of climate change on fish populations *ICES J. Mar. Sci.* 2009, 66 (7): 1570-1583 first published online April 2, 2009 doi:10.1093/icesjms/fsp056

Skóra K.E., Stolarski J., New fish species in the Gulf of Gdańsk. *Neogobius* sp[cf. *Neogobius melanostomus* (Pallas 1811)], *Bulletin of the SFI, Gdynia*, 1993, 1(128); 83.

Allison L. Perry^{1,*}, Paula J. Low^{2,†}, Jim R. Ellis², John D. Reynolds^{1,*} -Climate Change and Distribution Shifts in Marine Fishes *Science* 2005:Vol. 308, Issue 5730, pp. 1912-1915

- Martin Daufresne^{a,b,1}, Kathrin Lengfellner^a and Ulrich Sommer^a Global warming benefits the small in aquatic ecosystems

- David M. Checkley, Jr. Selective Feeding by Atlantic Herring (*Clupea harengus*) Larvae on Zooplankton in Natural Assemblages, *Marine ecology- progress series* 1982, Vol 9, 245-253,

- Michael A. Chotkowski, J. Ellen Marsden¹, Round Goby and Mottled Sculpin Predation on Lake Trout Eggs and Fry: Field Predictions from Laboratory Experiments, *Journal of Great Lakes Research* 1999 Volume 25, Issue 1, Pages 26–35

Asbjørn Gildberg, Helene Mikkelsen Effects of supplementing the feed to Atlantic cod (*Gadus morhua*) fry with lactic acid bacteria and immuno-stimulating peptides during a challenge trial with *Vibrio anguillarum* Volume 167, Issues 1–2, 1 August 1998, Pages 103–113

Budget

Item	Funds for each budget year (zł)			Total
	2017	2018	2019	
1. Direct costs, including:	29 700	6 100	5 400	41 200
1/ Salaries and benefits	14 000	1 200	1 200	16 400
2/ Equipment	13 500	0	0	13 500
3/ Other direct costs	2 200	4 900	4 200	11 300
2. Indirect costs	3240	1220	1080	5540
Total costs (1+2)	32 940	7320	6480	46740

Budget explanation

1. Direct costs

Salaries and benefits:

-salaries for project participants: 1000zł*12 months*3 years=3600

-services: obtaining fish larvae from the sea and transport: 2000zł in 2017

Equipment:

-

digital balances: $3 * 2000 = 6000$ zł

aquaria, thermostates, water pumps and filters $30 * 200 = 6000$ zł

digital cameras and tripods $3 * 500 = 1500$ zł

Other direct costs

-food for fish: $1000\text{zł} + 2000\text{zł} + 500\text{zł} = 3500$, as the fish will require more food when they are older

-usables:

→ gloves, laboratory coats: $500\text{zł} + 200\text{zł} + 100\text{zł} = 800\text{zł}$, as in the 2017 we will buy the laboratory coats and the second year of laboratory work will be finished in the beginning of 2019

→ detergents to clean the equipment: $2 * 200\text{zł} + 100\text{zł} = 500$ (in 2019 less from the reason as above)

-conferences: 2018 the International Conference on Fisheries, Aquaculture Economics and Seafood Trade in Prague -2000zł

in 2019 the International Conference on Climate Change and Global Warming in Paris -3000 zł

-access to databases: $3\text{years} * 500\text{zł}$.

4.1.2. REVIEWS

Prof. Dr hab. Adam Lomnicki

Review of the project without the title
concerning changes of fish populations due to global Warming

This project is very fashionable, since many scientists are now engaged in the studies of the effects of global warming. However, I was not convinced that this project should be carried on. It takes into account that the effects of global warming were not studied as extensively in Baltic sea as in other sea and oceans, but what the authors propose is either already known or very difficult to achieve with a small group of researchers and with a very small financial support

It is already known that at higher temperature, fish attain smaller sizes and produce less progeny. Another phenomena which the authors of this project ignore are smaller sizes of fish due to the intensive exploitation. This phenomenon is predicted by life history strategy since the absence of larger individual fish is usually correlated with high mortality and it makes smaller individual to reproduce earlier at smaller sizes. Therefore the laboratory experiment which will with high probability confirm a well-known phenomenon of smaller size at higher temperatures will not give precise prediction what will happen in Baltic sea. This is because, there are different and variable exploitation pressures. For example, in 1940s and 1950s cods were considered as a very cheap and not very attractive fish but now with changing diets to reduce the consumption of fat, cods are considered as very attractive and exclusive fish, their prices are high and the pressure on their exploitation is growing. Concluding, the laboratory experiments proposed in this project will bring about neither some scientifically important information nor give a good prediction what will happen in Baltic sea in the nearest future.

Another set of studies at the Baltic sea how the population sizes of different fish species are changing due to global warming and what are the new species invading this sea are extremely important and should be carried on. To accomplish such a study one requires a large institute of at least 100 persons at the Baltic sea with the budget of at least a million euros per year. If you feel you are able to write a program for such an institute you may do it, but the budget must be higher than 47 thousands zlotys.

Mgr Ewelina Klichowska

Substantive evaluation of project

The project addresses a very important issue – the impact of climate change on populations of marine fish. Subject particularly important as it relates to aspects not only ecological but also economical.

The project contains some aspects which I regard as highly interesting. In general checking the temperature effect on the size of fish in the experimental conditions, combined with the analysis of historical data on fish measurements and climate data can afford to put forward far-reaching conclusions about the changes in the fish populations in the Baltic. Also „sub-projects” of alien species occurrence correlated with temperature can bring interesting results, perhaps the author could also think on the possibility of modeling the distribution of these species using some GIS tools. This proposal has at least three different main stages (laboratory experiment, analysis of historical data and obtain information about alien species in the Baltic Sea). At last in second of

these stages it should be possible to publish partial results before the end of the project, which certainly is a plus.

Methodology

In the description of the experiment lack information on the water in which the fish are reared. Will it be water on the salinity of the Baltic? I ask because the authors justify that these tests are necessary because of the different conditions prevailing in the Baltic Sea than in the seas from which the data are already published.

I wonder also whether all the fish will be fished from one shoal, if so, they may be closely related and I think it may influenced the results (they may present only a small range of variation). But maybe I am wrong perhaps fish often migrate and there are constant gene flow between populations. Nevertheless, I think that you need to justified that in the project.

I have my doubts whether the 30-liter aquarium is sufficient, whether the fish will not be there too crowded (eg. Atlantic cod from the Baltic Sea can reach 30-70 cm), whether it will not affect the results? Otherwise, try to justified it (eg. citing appropriate literature data).

I'm not sure whether fishery companies will agree to cooperate (more likely for a fee for filling in questionnaires).

Whether two years in the case of fish living so long and growing throughout their lives (as Atlantic cod) two years is sufficient time?

It would be worth thinking about some additional statistical methods.

Evaluation of implementation

I think the author steel should think about a few things for which I try to paid particular attention. However, for me the project seems to be realizable and worth funding.

Costs calculation

The cost estimate is not exaggerated, on the contrary, seems very low, just over 40,000 zł of direct costs for the three years of research. The salary is wrongly calculated, which lowers the final cost of the project.

Strengths of the project

- Interesting idea;
- Combining experimental studies with collection data „in the field”, climate information as well as the analysis of historical data;
- Selecting species that been kept in experimental condition in past;
- The project relatively cheap, just over 40,000 zł of direct costs for the three years of research;
- Good idea with involvement to help with catching larvae the Institute of Oceanography;
- As I mentioned earlier possibility of publishing partial results before the end of the project.

Weaknesses of the project

- In the project there is lack of title and authors surname (but I assume just to ensure ‘blind review’😊);
- I doubt that it be able to gather data in the field in a planned way (but maybe I'm a pessimist);
- In the methodology lack of certain information (see comments above);
- Maybe hypotheses can be specified more clearly;

- There is some error in the literature, which definitely need to be corrected;
- The cost of salaries was wrong calculated.

Mgr Michał Kobińska

Substantive evaluation of project

The proposed project concerns important issues related to the impact of climate change on living organisms – fishes. It should be noted that it relates to the Baltic Sea - which is not a place of similar researches in this regard. Therefore, the study will complement the knowledge in this field.

The authors present three aspects that will be studied. Two of them appear to be scientific hypothesis (1st and 3rd): the exposition to different levels of temperature effect on fish growth rates in a laboratory experiment and there is correlation between alien species occurrence and temperature conditions. Authors give to them appropriate predictions. The remaining aspect (2nd) relates to the historical fishes measurements and water temperature changes. I think that these studies will help to test the hypothesis that the water temperature changes effect on fish growth rates in nature. Therefore I would have replaced the “aspect” on “hypothesis” and create two hypotheses about effects of temperature in experiment and nature, and the last one about temperature and alien species.

Authors predictions seem to be reasonable and have been well founded. The authors clearly presented the state of knowledge concerning issues contained in the project. However, there should be a few sentences confirming the importance of the project and the broader impact on the development of a scientific discipline (section: Significance of the project).

In description (section: General concept of the research and experimental design) is missing clearly listed specific aims of projects. For laboratory experiments it is description of direct effect of temperature on fish organism (mass and length). What is specific aim of analyzing the historical data about fisheries? What is specific aim of analyzing the questionnaires given to fishery companies? Furthermore I am afraid that the companies may refuse to provide information contained in the questionnaires or share them for a fee.

The used methods seem to be clear and well chosen. I wonder if in the second year of project (laboratory experiment) it would be necessary to change the capacity of aquaria, which would increase budget.

Many positions in reference list confirm the high degree of expertise of authors. On the other hand, the list of references was made in a very chaotic way, without the use of certain schedule.

Assessment of estimate

In general, I can confirm that this project is a good example of low cost but potentially important basic research that deserves a public support.

The salaries for project participants were wrong calculated: $1000 \times 12\text{months} \times 3\text{years} = 36000\text{zł}$.

I suppose that the costs of aquaria, thermostates, water pumps and filters will be much higher than those set out in the budget. The same fact applies to digital cameras and tripods. The equipments in this price range will be characterized by poor quality and therefore reduced the possibilities.

In “other direct cost” I will add two general categories: laboratory equipment and chemical reagents.

Evaluation of implementation

It seems that the project is can be realized. The question remains whether a two-year experiment on young fish will get reliable results. Perhaps this is too short a period of time.

The problem mentioned in project is a subject of great interest, and I have no doubt that the results of the project (if succeed) can be published in high quality international journals, and may have a substantial impact in the field. The scientific level of proposed project tasks is very good.

Strengths of the project

- Interesting problem related to the impact of climate change
- Project focused on Baltic Sea (not studied in this case) - low salinity, shallow waters, one of the most polluted seas
- Project applies to invasive alien species
- Great authors knowledge of the subject, numerous references

Weaknesses of the project

- Unclearly highlighted hypothesis
- Unclearly highlighted specific aims of project
- Some gaps in budget
- The duration of the laboratory experiment - too short?

Mgr Patryk Komur

Ocena merytoryczna projektu

Przedstawiony projekt został napisany w sposób prawidłowy a jego poszczególne części stanowią logiczną całość. Problem badawczy poruszony przez autorki doskonale wpisuje się w trend badań nad wpływem zmian klimatycznych na organizmy żywe, co więcej badania zostaną przeprowadzone na dwóch gatunkach o dużym znaczeniu w gospodarce człowieka, czyli dorszu i śledziu. Jeśli przewidywania eksperymentów potwierdziłyby się i masa ryb malałaby wraz ze wzrostem temperatury wody, otrzymanoby silny dowód że zmiany klimatyczne mogą stanowić negatywny czynnik ekonomiczny. Bardzo słusznym pomysłem jest zebranie danych historycznych w celach porównawczych. Problemem wydaje się fakt iż ryby trzymane w tych samych akwariach podczas dwóch lat mogą z przyczyny zbyt dużego zagęszczenia osobników odczuwać stres i tracić masę. Czas trwania projektu przez 3 lata jest całkowicie optymalny.

Ocena kosztorysu

Kosztorys projektu jest bardzo szczegółowy i przejrzysty, nieuwzględnia natomiast kosztów publikacji, tłumaczeń i korekt. Pomimo tego jest on mądrze zaplanowany i zbalansowany. Biorąc pod uwagę ilość pracy, która zostanie włożona w projekt sugerowałbym zwiększenie wynagrodzenia dla uczestników projektu. Są błędy we wpisanych wartościach wynagrodzenia.

Ocena możliwości wykonania

Eksperyment ma jak największe szanse powodzenia jeśli nie doprowadzi się do wspomnianego wcześniej przegęszczenia osobników w akwariach. Nie zostało to napisane w projekcie ale warto w akwariach prócz temperatury wody utrzymywać to samo zasolenie co na terenie odłowów, co też może wymagać zakupu dodatkowego sprzętu. Bardzo dużą zaletą i częścią pracy są planowane ankiety.

Mocne strony wniosku

- Interesujący i ważny ekonomicznie temat
- Dobrze zdefiniowane hipotezy i cele badań
- Przemysłany plan wykonania badań i jego ramy czasowe

Słabe strony wniosku

- Pewne nieścisłości w metodyce hodowli ryb w laboratorium – ten sam rozmiar akwarium i taka sama liczba osobników niezależnie od ich rozmiarów wydają się być nie najlepszym pomysłem. Sugerowałbym zdefiniowanie jak często będzie wymieniana woda w akwariach
- Zbyt niskie wynagrodzenie w stosunku do ilości włożonej pracy w badania; należy poprawić wartości liczbowe kosztorysu

Mgr Aleksandra Rysiewska

Ocena merytoryczna projektu

Projekt jest spójny, wszystkie etapy zostały dokładnie zaplanowane i opisane w sposób zrozumiały. Czas trwania projektu jest uzasadniony i dobrze rozplanowany. Autorki w trakcie pierwszego roku badań planują zebrać i opublikować dane historyczne w celach porównawczych, uważam to za dobry pomysł i czas. Cel projektu został jasno opisany.

Ocena kosztorysu

Planowane koszty zakupu aparatury jest dokładnie opisany i rozplanowany. Wynagrodzenie za rok 2017 jest dobrze i czytelnie rozpisane, natomiast jeśli chodzi o rok 2018 i 2019 autorki przeznaczyły kwotę po 1200 zł. Łatwo także zauważyć fakt braku uwzględnienia kosztów publikacji oraz korekty językowej w planowanym projekcie.

Ocena możliwości wykonania

Badania oparte są na ciekawym przetestowaniu hipotez. Moją uwagę jednak zwróciła zbyt mała wielkość akwariów na tak dużą liczbę osobników - warto przeanalizować jeszcze raz rozmiar akwariów i ryb, które będą się tam znajdować aż przez dwa lata. Dodatkowo w metodach nie ma nic napisane o wymianie wody w akwariach przez cały okres trwania projektu. Należy również zwrócić uwagę aby woda miała podobne zasolenie jak w naturalnym środowisku. Pomiar długości ciała ryb gdy zostaną wyciągnięte z wody może być dość kłopotliwy. Ilość pracy włożona przy tym projekcie jest dość duża i pracochłonna sugerowałabym zatrudnić dodatkową osobę do pomocy przez okres przynajmniej dwóch pierwszych lat. Przy drobnym doszlifowaniu projekt mógłby zostać zrealizowany we względu na ciekawy temat.

Mocne strony

- badania dla terenów morza Bałtyckiego
- dokładnie opisanie poszczególnych etapów

Słabe strony projektu

- zbyt małe akwaria (30l) na ilość ryb w nim przebywających
- brak informacji o zmianie wody w trakcie trwania projektu przez 2 lata
- błędy i braki w kosztorysie.

4.1.3. FINAL VERSION OF PROJECT

Abstract

Climate change influences organisms in several ways: since 1990s, several studies outlined how this phenomenon modifies biogeographical distribution, physiology and behavior of animal species. Climate change consequences are complex as they involve not only ecological aspects, but also social and economic interests: this is particularly evident in fish populations.

Even if many studies have been conducted in both terrestrial and aquatic environments, not many described this problem on Baltic Sea fish populations. Our project will analyze the consequences of increased temperature on physiological traits (growth rate and body mass) in fish species as well as the occurrence of alien fish species in the Baltic Sea.

To verify the influence of increased temperature on body size, individuals of three species caught in the wild: the round goby (*Neogobius melanostomus*), the Atlantic herring (*Clupea harengus*) and the Atlantic cod (*Gadus morhua*) will be relocated to the laboratory under specific temperature conditions. Their growth rates will be measured during the two years of the experiment. Additionally, historical data will be analyzed to study the global warming effect on fish populations. Another aim of the project will allow us to examine whether the increased level of temperature facilitates the spread of invasive-alien species in nature. To obtain this result, we will collect data from the main fisheries companies of the Baltic Sea about alien species observed, number of individuals and their geographical distribution.

We predict a reduced growth rate and reduced body mass in response to the increased temperature and we expect a spread of invasive-alien species in the Baltic Sea areas which show higher temperature degrees. Our results will be meaningful for conservational and economical purposes.

Aim of the project

The project aims at testing whether the increase of water temperature has an important influence on fish physiology: in particular, our study will focus on body sizes measurements and the biogeographical shift driven by the water warming phenomenon (Draufesne et al.2009) in the Baltic Sea. Recent studies outlined how the global warming event has important consequences on both exploited and non-exploited Northern Sea fishes, which started to show boundary shifts on their distribution. Furthermore, species with shifting distributions have shorter life cycles which causes a general decrease of their body sizes in comparison to non-shifting species (Perry et al. 2005). This implicates an important effect at economical scale (food sources are lower). In our study, we decided to capture some individuals from the field and conduct the experiment in the laboratory. Our data will be collected for three different fish species, which have been already used in the past to conduct experiments in captivity. (Checkley 1982, Chotkowski & Marsden 1999, Gildberg & Mikkelsen 1998).

We decided to study fishes in the Baltic Sea, as the results of research which were done in other water bodies may be different in this sea due to its specific conditions. It is characterized by low salinity and shallow water; as studies show, salinity (also with interaction with temperature) influences fish growth (Alderdice and Velsen 1971, Boeuf and Payan 2001). Furthermore, it is

considered one of the most polluted seas in the world (GIOS 2014). Moreover, Baltic populations of some widely caught fishes are considered distinct subspecies, e.g. the Baltic herring *Clupea harengus membras* (Froese 2016).

In our project, the following hypotheses will be studied:

- (i) increase of water temperature declines the fish growth rate, and yield as a consequence,
- (ii) increased water temperature promotes alien species occurrence in the Baltic Sea.

We predict reduced growth rates and reduced body mass, according to the temperature-size rule (Atkinson 1994). In terms of alien species, we expect that an increased temperature will promote species originating from warmer (e.g. Mediterranean Sea) waters to enter the Baltic Sea, as in the case of recent appearance of round goby (Skóra and Stolarski 1993); however, the mentioned low salinity may impede this effect.

Significance of the project

Climate warming, observed throughout last decade, leads to change in conditions of life in the waters. This has physiological and zoogeographical implications. Temperature rising, besides having a direct influence on organisms, leads to decline of oxygen amount in water by reducing its solubility. This may promote smaller body size in fishes, according to the temperature-size rule (Atkinson 1994). However, the experimental data is not consistent: some Baltic species, such as sprat (*Sprattus sprattus*) are predicted to benefit from increasing water temperature (MacKenzie 2004). On the other hand, the study conducted by Baudron et al. (2014) in the North Sea shows that in six of eight economically important fish species body size, and resulting yield, was reduced within last 40 years, accompanied by 1-2 °C increase in water temperature. According to the research, early life stages are the most sensitive to temperature increase in terms of determining body size (Baudron et al. 2014, Forster et al. 2011). Kristiansen et al. (2014), basing on performed modelling, predict that population of Atlantic cod (*Gadus morhua*) will undergo decline in body size as well as higher mortality as an indirect result of temperature increase, which will act through decrease in the larvae nourishment, zooplankton.

The zoogeographical consequences observed so far encompass shifts in species ranges towards the North in the Northern Hemisphere (Rijnsdorp et al. 2009). This leads sometimes to appearance of tropical species in temperate zones, as noted e.g. at the Azores Islands coast (Afonso et al. 2013). There are also some predictions concerning Baltic Sea fishes (MacKenzie 2007), stating e.g. that, due to altered predator-prey interactions, the population of Atlantic cod will decrease. They are warning that climate change may result in collapse of some fish species, as happened already with dab (*Limanda limanda*) and plaice (*Pleuronectes platessa*) in central Baltic. Thus, it is worth checking how the populations are changing through time.

The requirements of freshwater organisms should be taken into account in the future delineation of protected areas and in the estimation of the degree to which protected areas accommodate freshwater biodiversity in the changing climate and associated environmental changes. It is necessary to adapt management strategies accordingly among the several stakeholders. Knowledge about alien species enables to develop strategies to protect native species.

General concept of the research and experimental design

We plan to organize the study for three years. It will be set in the following parts:

We will start by settling the laboratory experiment. The experiment will allow us to observe the growth rate of fishes kept in two different temperature conditions. The fish will be caught from the wild and then kept in aquaria for two years. This will allow us to observe only the direct effect of temperature on fish organism and not the indirect effect present in nature which includes impact of temperature on the species that fish feed on. As targets of this project, we decided to use three fish species, which may differ in their response to temperature manipulation:

- The Atlantic cod (*Gadus morhua*) is a common fish in the Baltic Sea; however, the western population is strongly affected by the overfishing phenomenon.
- The Atlantic herring (*Clupea harengus*) is one of the most abundant fish species in the world: it is common on both sides of the Atlantic Ocean. The Baltic population is considered a distinct subspecies - Baltic herring *Clupea harengus membras* (Froese 2016).
- The round goby (*Neogobius melanostomus*) is a fish species native to Central Eurasia including both the Black Sea and the Caspian Sea. Round gobies are invasive alien species which have also established large populations in the Baltic Sea after some accidental and intentional introductions (Skóra and Stolarski 1993).

The results of this part will be analyzed and published during the third year of the study.

We will also collect data about field populations in two aspects:

During the first year of the project, we will analyze the historical data about fisheries in the Baltic Sea obtained from the Statistical Yearbooks of Maritime Economy which will consider yearly yield size for each species in the last 20 years and the sea water temperature throughout this time, obtained from oceanology databases. This will allow to test the hypothesis of decreased yield in response for increased water temperature. The results will be published during the second year of the project.

To obtain information about alien species in the Baltic Sea, questionnaires will be delivered to fishery companies. The forms will include questions about species name, the number, date and place of caught individuals. For unrecognized individuals, we will require a picture, based on which we will determine the species. This information will be combined with data about water temperature to verify the hypothesis that increased water temperature promotes alien species occurrence in the Baltic Sea. This data will be collected during the first two years of the project and analyzed and published in the last year. The data about alien species occurrence will be delivered to the fisheries companies as well as description of biology of each species observed.

We plan to take part in two conferences, in the second and third year, to present the obtained results: in 2018 the International Conference on Fisheries, Aquaculture Economics and Seafood Trade in Prague and in 2019 the International Conference on Climate Change and Global Warming in Paris.

Research methods

Laboratory experiment

The larvae will be caught from the wild populations living the Baltic Sea in May with help of the Institute of Oceanography of the University of Gdańsk in Poland. Individuals belonging to one species will be sampled in one place but they will represent substantial genetic diversity according to a high gene flow in marine fish (Hellberg 2009, Limborg 2012). The larvae from each species will be then placed randomly into 30 l aquaria to obtain 20 larvae per aquarium, 5 aquaria per each temperature regime. This will result in the total number of 30 aquaria. We planned the size of aquaria basing on other studies (Gildberg and Mikkelsen 1998). The fish will be moved to bigger aquaria as they grow. The fish will be fed *ad libitum* with dry pellet.

We will obtain data from oceanology databases for last year concerning the temperature and salinity in water regions where our species of interest are caught, including the seasonal fluctuations. Based on that we will set the salinity in our experiment. The temperatures will resemble the fluctuation pattern in nature and in the “colder” aquaria the temperature will be shifted -1°C and in the “warmer” aquaria +1°C compared to natural conditions. To achieve this, we will use thermostats. Water flow in the aquaria will be constant due to water pump usage. The aquaria will be cleaned every two months.

The measurements will be taken weekly. Random sample of 10 specimens from each aquarium will be measured for body length and mass. Measurements from each aquarium will be used to calculate the arithmetic means for body length and mass.

The weight will be measured on digital balance. The fish will be placed on a balance in a small water container of known weight. The total length (from pinch mouth to pinch tailpin) will be measured using silhouette photography, as described by Neave and Batty. (1982)

Field data collection

The questionnaires will be managed by the Internet. The analyzes of questionnaires about alien species will be accompanied by analyzes of monthly average water temperature in the regions of fishing, obtained from oceanology databases.

Statistical analyses

We will calculate growth rates in each temperature regime from the gain of length and mass (treated separately) observed every week. We will analyse this measurements of growth rates with GLM (general linear model) with temperature as a fixed explanatory variable, aquarium as a random explanatory variable, and growth rate (considered as change in body length (mm) or body mass (g), respectively), as respond variables.

For the data concerning yield in the Baltic Sea, we will perform GLM for each species separately, with yield in a year as a respond variable and mean water temperature in a year as random explanatory variable.

For the data concerning alien species occurrence, we will calculate the Spearman rank coefficient, the monthly average temperature will be correlated with the number of occurrences and the number of species (Afonso 2013).

References

- Afonso P., Porteiro F. M., Fontes J., Tempera F., Morato T., Cardigos F., Santos R. S. (2013) New and rare coastal fishes in the Azores islands: occasional events or tropicalization process? *Journal of Fish Biology*, 83: 272–294
- Atkinson D. (1994) Temperature and organism size – a biological law for ectotherms. *Advances in Ecological Research* 25: 1–58.
- Baudron A. R., Needle C. L., Rijnsdorp A. D., Marshall T. C. (2014) Warming temperatures and smaller body sizes: synchronous changes in growth of North Sea fishes. *Global Change Biology* Volume 20, Issue 4: 1023–1031
- Checkley Jr. D. M. (1982) Selective Feeding by Atlantic Herring (*Clupea harengus*) Larvae on Zooplankton in Natural Assemblages. *Marine Ecology – Progress Series* 9: 245–253,
- Chotkowski M. A., Marsden J. E. (1999) Round Goby and Mottled Sculpin Predation on Lake Trout Eggs and Fry: Field Predictions from Laboratory Experiments, *Journal of Great Lakes Research* Volume 25, Issue 1, 26–35
- Daufresne M., Lengfellner K., Sommer U. Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. *PNAS* Vol. 106 No. 31, 12788–12793
- Forster J., Hirst A. G., Atkinson D. (2011) How do organisms change size with changing temperature? The importance of reproductive method and ontogenetic timing. *Functional Ecology* 25: 1024–1031
- Froese R., Pauly D. (eds) (2016). FishBase (version Jan 2016). In: Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 25th March 2016 (Roskov Y., Abucay L., Orrell T., Nicolson D., Kunze T., Flann C., Bailly N., Kirk P., Bourgoin T., DeWalt R. E., Decock W., De Wever A., eds). Digital resource at www.catalogueoflife.org/col. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-8858
- Gildberg A., Mikkelsen H. (1998) Effects of supplementing the feed to Atlantic cod (*Gadus morhua*) fry with lactic acid bacteria and immuno-stimulating peptides during a challenge trial with *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture* Volume 167, Issues 1–2, 103–113
- GIOS *Raport o stanie środowiska w Polsce 2014*. Warszawa: Główny Inspektorat Ochrony Środowiska, 2014, series: Biblioteka Monitoringu Środowiska
- Hellberg M. (2009) Gene Flow and Isolation among Populations of Marine Animals. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40:291–310
- Kristiansen T., Stock C., Drinkwater K. F., Curchitser E. N. (2014) Mechanistic insights into the effects of climate change on larval cod. *Global Change Biology* Vol. 20, Issue 5, 1559–1584
- Limborg M. T., Helyar S. J., De Bruyn M., Taylor M. I., Nielsen E. E., Ogden R., Carvalho G. R., FPT Consortium, Bekkevold D. (2012) Environmental selection on transcriptome-derived SNPs in a high gene flow marine fish, the Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Molecular Ecology* 21 (15): 3686–3703

MacKenzie B. R., Gislason H., Möllmann C., Köster F. W. (2007) Impact of 21st century climate change on the Baltic Sea fish community and fisheries. *Global Change Biology* 13: 1348–1367

MacKenzie B. R., Köster F. W. (2004) Fish production and climate: sprat in the Baltic Sea. *Ecology* 85.3: 784-794.

McCormick M. I., Molony B. W. (1995) Influence of water temperature during the larval stage on size, age and body condition of a tropical reef fish at settlement. *Marine Ecology – Progress Series*. Oldendorf 118.1: 59-68.

Neave D. A., Batty R. S. (1982) A simple method for measuring fish larvae using silhouette photography. *Aquaculture* 29.1: 165-168

Perry A. L., Low P. J., Ellis J. R., Reynolds J. D. (2005) Climate Change and Distribution Shifts in Marine Fishes. *Science* Vol. 308, Issue 5730, 1912-1915

Rijnsdorp A. D., Peck M. A., Engelhard G. H., Möllmann Ch., Pinnegar J. K. (2009) Resolving the effect of climate change on fish populations. *ICES J. Mar. Sci.*, 66 (7): 1570-1583 first published online April 2, 2009

Skóra K.E., Stolarski J. (1993) New fish species in the Gulf of Gdańsk. *Neogobius* sp[cf. *Neogobius melanostomus* (Pallas 1811)]. Bulletin of the SFI, Gdynia, 1(128); 83

Budget

Item	Funds for each budget year (zł)			Total
	2017	2018	2019	
1. Direct costs, including:	72 300	60 900	46 600	179 800
1/ Salaries and benefits	45 000	43 000	37 800	125 800
2/ Equipment	23 100	9000	0	32 100
3/ Other direct costs	4 200	8 900	8 800	21 900
2. Indirect costs	9 840	10 380	9 320	29 540
Total costs (1+2)	82 140	71 280	55 920	209 340

Budget explanation

The second year of laboratory work will be finished in the beginning of 2019 calendar year.

Salaries and benefits:

-salaries for 2 full-time project participants: $2 * 1500 \text{ zł} * 12 \text{ months} * 3 \text{ years} = 36\,000 \text{ zł}$

-salary for a part-time technician: $12 * 500 \text{ zł} + 12 * 500 \text{ zł} + 3 * 500 \text{ zł} = 13\,500 \text{ zł}$

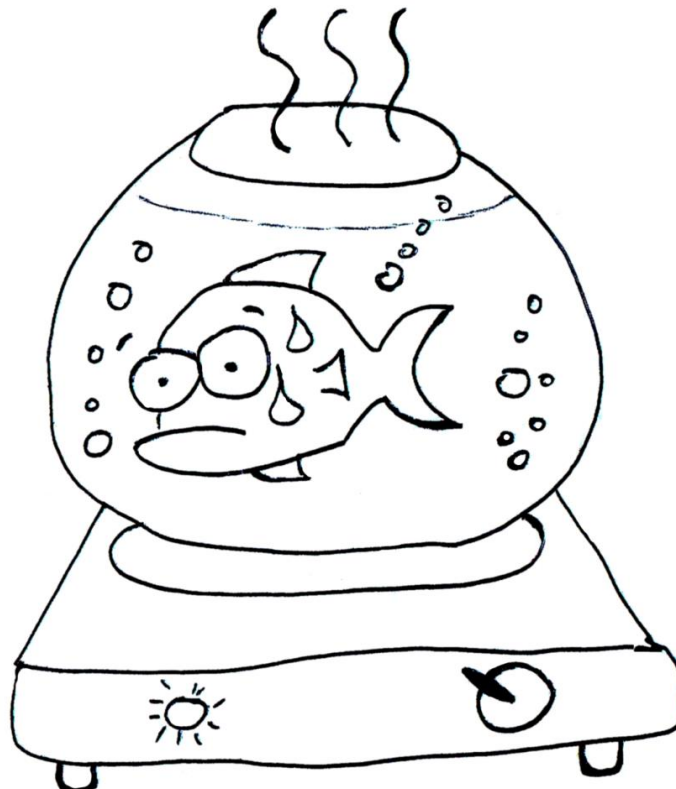
- services: obtaining fish larvae from the sea and transport: 2000 zł in 2017
- services: veterinarian care if necessary: 1000 zł + 1000 zł + 300 zł = 2300 zł

Equipment:

- digital balances: $3 * 2000 \text{ zł} = 6000 \text{ zł}$ (one for each species) in 2017
- aquarium equipment (thermostats, water pumps and filters, food dosers): $30 * 500 \text{ zł} = 15\,000 \text{ zł}$ in 2017
- small aquaria: $30 * 20 \text{ zł} = 600 \text{ zł}$ in 2017
- bigger aquaria to move grown fish: $30 * 300 \text{ zł} = 9\,000 \text{ zł}$ in 2018
- digital cameras and tripods: $3 * 500 \text{ zł} = 1\,500 \text{ zł}$ in 2017

Other direct costs:

- food for fish: $1000 \text{ zł} + 2000 \text{ zł} + 500 \text{ zł} = 3500 \text{ zł}$, as the fish will require more food as they will grow
- sea salt: 4500 zł
- usables:
 - gloves, laboratory coats: $500 \text{ zł} + 200 \text{ zł} + 100 \text{ zł} = 800 \text{ zł}$
 - detergents to clean the equipment: $2*200\text{zł} + 100\text{zł} = 500 \text{ zł}$
- conferences:
 - the International Conference on Fisheries, Aquaculture Economics and Seafood Trade in Prague: 2000 zł in 2018
 - the International Conference on Climate Change and Global Warming in Paris: 3000 zł in 2019
- access to databases: $3 * 500 \text{ zł} = 1500 \text{ zł}$
- publication costs: 2000 zł in 2018 + $2 * 2000 \text{ zł}$ in 2019 = 6000 zł



4.2.CZY ŻABY ZJADAJĄ SWOJE POTOMSTWO? KANIBALIZM U *RANA TEMPORARIA*

Authors: Michał Kobiółka & Ewelina Klichowska

4.2.1. FIRST VERSION OF PROJECT

Streszczenie projektu

Kanibalizm jest jednym z najbardziej kontrowersyjnych a zarazem częstym zjawiskiem w świecie zwierząt. Mimo kilkudziesięciu lat badań prowadzonych przez liczne grupy badawcze występowanie tego zjawiska, mechanizmy jego działania oraz wpływające na nie czynniki nie zostały dostatecznie poznane. Jedną z grup zwierząt u których powszechnie obserwuje się zachowania kanibalistyczne są płazy.

Na przykładzie żaby trawnej (*Rana temporaria* L.) będziemy sprawdzać czy altruizm krewniaczy ma wpływ na zachowania kanibalistyczne występujące wśród dorosłych osobników płazów. Interesuje nas również czy na dobór krewniaczy wśród kanibali wpływ mają takie czynniki jak płeć, dostępność pokarmu oraz zagęszczenie osobników w próbie.

Przy pomocy czterech eksperymentów prowadzonych w warunkach laboratoryjnych przetestujemy następujące hipotezy: 1) pokrewieństwo wpływa na wybór ofiary; 2) płeć kanibala wpływa na zachowania kanibalistyczne; 3) Dostępność pokarmu wpływa na zachowania kanibalistyczne i dobór krewniaczy; 4) Zagęszczenie osobników w populacji ma wpływ na zachowania kanibalistyczne i dobór krewniaczy.

Wyniki badań przyczynią się do zwiększenia stanu wiedzy na temat występowania doboru krewniaczego w zachowaniach kanibalistycznych u zwierząt, mechanizmów ich działania oraz wpływających na nie czynników. Pozwolą lepiej zrozumieć ewolucyjne znaczenie zachowań kanibalistycznych.

Cel naukowy projektu

(jaki problem naukowy wnioskodawca podejmuje się rozwiązać, hipotezy badawcze)

Kanibalizm jest zachowaniem powszechnie występującym przyrodzie. Przykładów można szukać w różnych grupach taksonomicznych, od bezkręgowców po kręgowce. Jest to zjawisko odgrywające dużą rolę w ekologii i ewolucji wielu gatunków (Elgar and Crespi, 1992). Wśród potencjalnych korzyści wynikających z kanibalizmu można wymienić: 1) zdobycie substancji odżywczych (szczególnie w okresie głodu; również jako częściowa rekompensata kosztów poniesionych na reprodukcję); 2) pozbywanie się potencjalnej konkurencji w walce o zasoby środowiska i przestrzeń życiową.

Zgodnie z działaniem doboru krewniaczego – reguła Hamiltona, jeżeli występują zachowania kanibalistyczne powinny dotyczyć zjadania osobników niespokrewnionych (Hamilton, 1964). Wówczas musi również istnieć pewien mechanizm rozpoznawania krewnych (z ang. „kin recognition”) (Blaustein, 1983; Waldman, 1986, 1990).

Postawiono hipotezę badawczą, iż w zachowaniach kanibalistycznych u dorosłych płazów występuje dobór krewniaczy.

Celem naszych badań jest poznanie zachowań kanibalistycznych osobników dorosłych na przykładzie żaby trawnej – *Rana temporaria* L. Poprzez planowane eksperymenty chcemy

sprawdzić czy na wybór ofiary mają wpływ czynniki takie jak: 1) pokrewieństwo; 2) płeć osobników dorosłych (kanibali); 4) dostępność pokarmu; 5) zagęszczenie populacji.

Będziemy testować hipotezy badawcze: 1) pokrewieństwo wpływa na wybór ofiary. Oczekujemy, że osobniki dorosłe częściej zjadają młode osobniki przeobrażone, które nie są z nimi spokrewnione (nie będące ich potomstwem). Występuje działanie doboru krewniaczego i żaby nie zjadają swoich potomków; 2) płeć kanibala wpływa na zachowania kanibalistyczne. Przewidujemy, że kanibalami są częściej samce niż samice; 3) dostępność pokarmu wpływa na zachowania kanibalistyczne i dobór krewniaczy. Oczekujemy, że spadek dostępności pokarmu będzie stymulował występowanie aktów kanibalistycznych, natomiast inhibował działanie doboru krewniaczego; 4) zagęszczenie osobników w populacji ma wpływ na zachowania kanibalistyczne i dobór krewniaczy. Przewidujemy, że wzrost zagęszczenia osobników będzie wywoływał wzrost liczby aktów kanibalistycznych, a także obniżał wpływ doboru krewniaczego.

Znaczenie projektu

(dotychczasowy stan wiedzy, uzasadnienie podjęcia problemu badawczego, uzasadnienie nowatorskiego charakteru badań, znaczenie wyników projektu dla rozwoju danej dziedziny i dyscypliny naukowej oraz rozwoju cywilizacyjnego)

Jedną z grup kręgowców, charakteryzująca się powszechnie występującym kanibalizmem są płazy (Drewes and Altig, 1995; Toledo et al., 2006; Measey et al., 2015). Zjawisko to dotyczy różnych taksonów płazów, ogoniastych np. salamander a nade wszystko płazów bezogonowych, w tym różnych gatunków żab. Zjadanie osobników własnego gatunku ma miejsce na różnych etapach rozwoju tych kręgowców. Larwy zjadają jaja (Crossland et al., 2011) lub siebie nawzajem (Altig et al., 2007); dorosłe osobniki zjadają jaja (Beard, 2007), larwy oraz młodociane osobniki przeobrażone (Pizzatto and Shine, 2008).

W literaturze można znaleźć przykłady rozpoznawania krewnych oraz występowania altruizmu krewniaczego w zjawiskach kanibalistycznych wśród larw płazów (Pfenning, 1990; Pfenning and Collins, 1993; Pfenning et al., 1999), w tym żab (Waldman, 1984; Cornel et al., 1989; Gamboa et al., 1991; Pfenning et al., 1993). Zjawisko to wydają się mieć uzasadnienie, ponieważ na tym etapie rozwoju śmiertelność jest bardzo wysoka, a korzyści odżywcze przewyższają straty. Znacznie mniej informacji można znaleźć na temat kanibalizmu wśród osobników przeobrażonych (Pizzatto and Shine, 2008; Measey et al., 2015). Istnieją dowody na występowanie „kin recognition” u osobników przeobrażonych (Cornell et al., 1989), ale brak informacji na temat działania doboru krewniaczego na kanibalizm na tym etapie rozwoju osobników. W świecie zwierząt często zdarza się, że samce zjadają młode osobniki tego samego gatunku (De Woody et al. 2001). Może mieć to związek z faktem, iż samice inwestują więcej energii w produkcję gamet. W literaturze brak jednak danych dotyczących wpływu płci na zachowania kanibalistyczne u płazów.

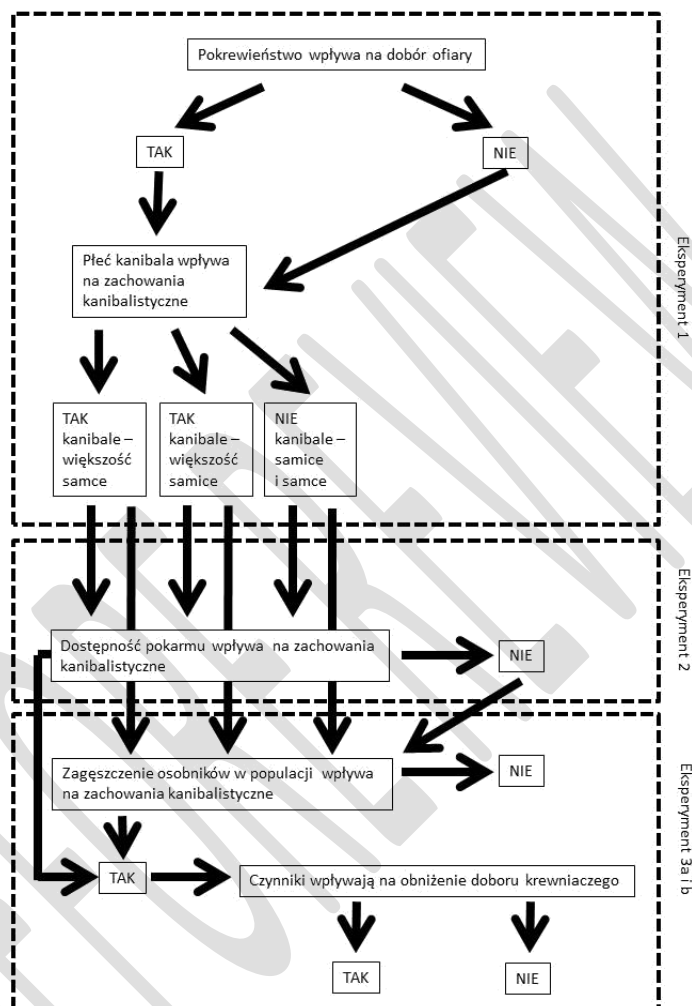
Żaba trawna to gatunek szeroko rozpowszechniony w Europie, jest zwierzęciem eurytypowym – cechuje ją szerokie spektrum środowiskowe. Osobniki dorosłe prowadzą lądowy tryb życia. Rozród zachodzi w wodzie, tam też żyją osobniki larwalne (Głowaciński and Rafiński, 2003). U osobników żaby trawnej zaobserwowano zjawisko kanibalizmu, w którym dorosłe żaby zjadały młode po przeobrażeniu (Młynarski, 1974). W ramach niniejszego projektu chcielibyśmy przeprowadzić szereg obserwacji zachowań związanych z kanibalizmem u żab trawnych w warunkach eksperymentalnych. Projekt pozwoli na dokładniejsze poznanie tego zjawiska, jego

zależności od pokrewieństwa, płci oraz wybranych warunków środowiskowych. Przyczyni się to do wskazania ewolucyjnego znaczenia zachowań kanibalistycznych.

Koncepcja i plan badań

(ogólny plan badań, szczegółowe cele badawcze, wyniki badań wstępnych)

Załączony schemat (ryc. 1) przedstawia ogólny plan badań. Zawiera hipotezy badawcze oraz nasze przewidywania. Zaznaczono również w obrębie których eksperymentów będą sprawdzane poszczególne hipotezy. Przebieg eksperymentów został opisany w rozdziale pt. Metodyka badań.



Ryc.1 Plan badań

Celem pierwszego eksperymentu jest sprawdzenie czy w dogodnych warunkach hodowlanych (stały pokarm, odpowiednio duża przestrzeń życiowa) dochodzi do zjadania młodocianych żab przez osobniki dorosłe. Chcemy sprawdzić przede wszystkim czy występuje rozpoznanie krewnych oraz działanie doboru krewniaczego, czy osobniki dorosłe rozpoznają własne potomstwo? Czy ma to wpływ na wybór ofiary? Będziemy także obserwować jaka jest ilość zjadanych młodych przez samice a jaka przez samce. Ma to na celu sprawdzenie czy płeć ma wpływ na zjawisko kanibalizmu i czy samice które inwestują więcej w produkcję gamet, w mniejszym stopniu będą zjadać swoje potomstwo. Do eksperymentu drugiego i trzeciego zostaną wprowadzone osobniki dorosłe (wybór płci będzie zależał od wyniku eksperymentu 1). Drugi eksperyment ma na celu sprawdzenie jak wpływa dostępność pokarmu na działanie doboru krewniaczego. Chcemy sprawdzić, czy głodzone osobniki chętniej będą spożywały młode żaby i

czy będą wybierały własne potomstwo. Trzeci eksperyment ma na celu zbadanie wpływu zagęszczenia osobników dorosłych (3a) lub młodych (3b) na liczbę występowania zachowań kanibalistycznych. Sprawdzając będziemy czy działanie dobru krewniaczego obniża się pod wpływem wzrostu liczebności osobników zarówno dorosłych jak i młodocianych.

Uzyskanie wyniku zaprzeczającego hipotezie wyjściowej (hipoteza alternatywna) zmusza nas do przejścia do kolejnego kroku w planie badań. Uzyskanie wszystkich wyników zaprzeczających poszczególne hipotezy będzie oznaczać brak wpływu doboru krewniaczego na zachowania kanibalistyczne badanych żab. Pierwszy eksperyment zostanie wykonany w pierwszym roku trwania projektu, pozostałe w drugim. Wyniki będą zbierane i analizowane na bieżąco. W trzecim roku będziemy wykonywać analizy i opracowywać wyniki.

Metodyka badań

(sposób realizacji badań, metody, techniki i narzędzia badawcze, metody analizy i opracowania wyników, urządzenia i aparatura wykorzystywane w badaniach)

Dorośle osobniki będą odławiane końcem marca/początkiem kwietnia podczas wędrówek na rozród. By zmniejszyć prawdopodobieństwo pokrewieństwa między osobnikami, będą one odławiane z oddalonych od siebie stanowisk. Odłowione zostaną 30 samców i 30 samic. W warunkach laboratoryjnych każda para zostanie umieszczona w osobnym akwarium/pojemniku o pojemności 60 l, po zapłodnieniu jaj, osobniki dorosłe zostaną przeniesione do osobnych (30 l) pojemników wypełnionych w 1/4 wilgotnym żwirem i niewielką ilością wody. W 60 l pojemnikach zostanie skrzek (od każdej pary osobno) w ilości 150–200 jaj. Jaja będą przetrzymywane w temperaturze wody 10–15° C, z fotoperiodem 14D:10N, kijanki po wykluciu będą trzymane w temperaturze 15–20° C. Woda w pojemnikach będzie wymieniana 2 razy w tygodniu. We wszystkich akwariach będą zapewnione takie same warunki. Wraz z liczbą przeobrażonych młodych żab akwarium będzie osuszane.

Aby było możliwe określenie pokrewieństwa z osobnikami dorosłymi, młode żabki będą znakowane nietoksycznymi barwnikami fluorescencyjnymi. Barwniki będą wstrzykiwane w błonę pławną kończyny dolnej.

Eksperyment 1. W 60 pojemnikach (o pojemności 30 l) wypełnionych w 1/4 wilgotnym żwirem i niewielką ilością wody, umieszczamy po jednym osobniku dorosłym (w 30 samice, w 30 samce). Do każdego z pojemników przełożone zostanie po 20 osobników młodocianych. Młode osobniki będą w równej proporcji spokrewnione do niespokrewnionych. Eksperyment będzie trwał 10 dni. Po 10 dniach osobniki młodociane (spokrewnione i niespokrewnione z osobnikiem dorosłym) będą liczone.

Eksperyment 2.

W 20 pojemnikach (o pojemności 30 l) wypełnionych w 1/4 wilgotnym żwirem i niewielką ilością wody, umieszczamy po jednym osobniku dorosłym. W 10 z nich osobniki dorosłe przed przystąpieniem do eksperymentu będą miały przez 7 dni ograniczone racje żywnościowe o połowę, w kolejnych 10 racje żywnościowe zostaną ograniczone o 75% (w stosunku do kontroli). Do każdego z pojemników przełożone zostanie po 20 osobników młodocianych. Młode osobniki będą w równej proporcji spokrewnione do niespokrewnionych (w stosunku do osobnika dorosłego).

Kontrola: W 10 pojemnikach (o pojemności 30 l) wypełnionych w 1/4 wilgotnym żwirem i niewielką ilością wody, umieszczamy po jednym osobniku dorosłym. Osobniki dorosłe przed przystąpieniem do eksperymentu będą karmione normalnie.

Po 10 dniach trwania eksperymentu osobniki młodociane (spokrewnione i obce) będą liczone.

Eksperyment 3 a.

W 10 pojemnikach (o pojemności 30 l) wypełnionych w 1/4 wilgotnym żwirem i niewielką ilością wody umieszczamy po jednym osobniku dorosłym. Do każdego z pojemników przełożone zostanie po 20 osobników młodocianych (w równej proporcji spokrewnione do niespokrewnionych). W kolejnych 10 pojemnikach umieszczamy po dwa osobniki dorosłe oznakowane tym samym kolorem co ich potomstwo. Do każdego z pojemników przełożone zostanie po 20 osobników młodocianych (po 10 osobników potomnych każdego z rodziców wybranych do eksperymentu). Do kolejnych 10 pojemników zostanie przełożone po 4 osobniki dorosłe (oznakowane tymi samymi kolorami co ich potomstwo) i 20 osobników młodocianych (po 5 osobników potomnych każdej dorosłej żaby). Eksperyment będzie trwał 10 dni. Pojemniki będą filmowane przy użyciu kamer przez 24 godziny na dobę.

Eksperyment 3 b.

W 10 pojemnikach (o pojemności 30 l) wypełnionych w 1/4 wilgotnym żwirem i niewielką ilością wody umieszczamy po jednym osobniku dorosłym. Do każdego z pojemników przełożone zostanie po 20 osobników młodocianych (w równej proporcji spokrewnione do niespokrewnionych). W kolejnych 20 pojemnikach umieszczamy po 1 osobniku dorosłym. Do 10 pojemników dokładamy po 30 osobników młodocianych (w równej proporcji spokrewnione do niespokrewnionych). Do kolejnych 10 pojemników po 40 osobników młodocianych (też w równej proporcji pokrewieństwa). Eksperyment będzie trwał 10 dni. Po 10 dniach osobniki młodociane (spokrewnione i niespokrewnione z osobnikiem dorosłym) będą liczone.

Analiza wyników

W planowanych eksperymentach będziemy mieć następujące zmienne zależne: stosunek zjedzonych do niezjedzonych osobników; procent zjedzonych spokrewnionych; procent zjedzonych niespokrewnionych osobników oraz stosunek zjedzonego własnego potomstwa do zjedzonych niespokrewnionych osobników. Zmienną grupującą będzie płeć osobników dorosłych, a w kolejnych eksperymentach głód lub zagęszczenie osobników w próbie.

Przy pomocy testu W Shapiro-Wilka sprawdzimy zgodność rozkładu badanych zmiennych z rozkładem normalnym. Zmienne których rozkłady nie spełnią założenia normalności poddamy transformacji Box-Cox. Jednorodność wariancji sprawdzimy testem Levene'a. Aby sprawdzić czy istnieją statystycznie istotne różnice między średnimi (dla poszczególnych zmiennych) pomiędzy badanymi grupami, przeprowadzimy analizę wariancji (ANOVA). Jako test post-hoc zastosujemy test Tukey'a HSD. Jeśli ANOVA wykaże istotne statystycznie różnice między badanymi grupami przeprowadzimy analizę składowych głównych (PCA) celem sprawdzenia ogólnych wzorców zmienności między badanymi grupami (do analizy zostaną wybrane te zmienne pomiędzy którymi nie będzie silnych korelacji, $>0,9$). W celu sprawdzenia czy pomiędzy zmiennymi zależnymi i zmiennymi grupującymi (dostępnością pokarmu i zagęszczeniem) istnieje korelacja obliczymy współczynnik korelacji Pearsona i/lub nieparametryczny współczynnik korelacji rang Spearmana.

Analizy wykonamy w programie STATISTICA 12 i PAST 2.17.

Literatura

1. Altig R, Whiles MR, Taylor CL. 2007. What do tadpoles really eat? Assessing the trophic status of an understudied and imperiled group of consumers in freshwater habitats. *Freshwater Biol* 52:386-395

2. Beard KH. 2007. Diet of the invasive frog, *Eleutherodactylus coqui*, in Hawaii. *Copeia* 2:281-291
3. Blaustein AR. 1983. Kin recognition mechanisms: Phenotypic matching or recognition alleles. *Am Nat* 121:749-754
4. Crossland MR, Hearnden MN, Pizzatto L, Alford RA, Shine R. 2011. Why be a cannibal? The benefits to cane toad, *Rhinella marina* [=Bufo marinus], tadpoles of consuming conspecific eggs. *Anim Behav* 82:775-782
5. DeWoody JA, Fletcher DE, Wilkins SD, Avise JC. 2001. Genetic documentation of filial cannibalism in nature. *PNAS* 98(9): 5090-5092
6. Drewes R, Altig R. 1996. Anuran egg predation and heterocannibalism in a breeding community of East African frogs. *Tropic Zool* 9:333-347
7. Gamboa GJ, Reeve HK, Holmes WG. 1991. Conceptual issues and methodology in kin-recognition research: a critical discussion. *Ethol* 88:109-127
8. Głowaciński Z, Rafiński J. 2003. Atlas płazów i gadów Polski. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Warszawa–Kraków
9. Hamilton WD. 1964. The genetical evolution of social behavior. *J. Theor Biol* 7:1-52
10. Measey GJ, Vimercati G, F de Villiers FA, Mokhatla MM, Davies SJ, Edwards S, Altwegg R. 2015. Frog eat frog: exploring variables influencing anurophagy. *PeerJ* 3:e1204
11. Młynarski M. 1971. Płazy i gady Polski. PZWS, Warszawa
12. Pfennig DW, Collins JP. 1993. Kinship affects morphogenesis in cannibalistic salamanders. *Nature* 362:836-838
13. Pfennig DW, Reeve HK, Sherman PW. 1993. Kin recognition and cannibalism in spadefoot toad tadpoles. *Anim Behav* 46:87-94
14. Pfennig DW. 1990. Kin recognition among spadefoot toad tadpoles: a side-effect of habitat selection? *Evol* 44:785-798
15. Pizzatto L, Shine R. 2008. The behavioral ecology of cannibalism in cane toads (*Bufo marinus*). *Behav Ecol Sociobiol* 63:123-133
16. Toledo LF, Ribeiro R, Haddad CF. 2007. Anurans as prey: an exploratory analysis and size relationships between predators and their prey. *J Zool* 271:170-177
17. Waldman B. 1986. Chemical ecology of kin recognition in anuran amphibians. In: Duvall D, Muller-Schwarze D, Silverstein RM (eds) *Chemical signals in vertebrates 4*, Plenum Press, NY, pp 225-242
18. Waldman B. 1990. Kin recognition in amphibians. In: Hepper PG (ed) *Kin recognition*. Cambridge University Press, Cambridge
19. Waldman B. 1984. Kin recognition and sibling association among wood frog (*Rana sylvatica*) tadpoles. *Behav Ecol Sociobiol* 14:171-180
20. Pfennig DW, Collins JP, Ziemba RE. 1999. A test of alternative hypotheses for kin recognition in cannibalistic tiger salamanders. *Behav Ecol* 4:436-443

Kosztorys

Item	Funds for each budget year (zł)			Total
	2016	2017	2018	
1. Direct costs, including:	83 000	45 500	44 000	172500
1/ Salaries and benefits	34500	34500	30000	99000
2/ Equipment	10 000	0	0	10000
3/ Other direct costs	38 500	11 000	14 000	63500
2. Indirect costs	14600	9100	8800	32500
Total costs (1+2)	97600	54600	52800	205000

Other direct costs	Total [zł]
zakup 30 pojemników/akwariów o pojemności 60 l oraz 60 pojemników – 30 l do hodowli zwierząt	20 000
zakup karmy dla zwierząt (w tym dla kijanek, osobników młodocianych I dorosłych)	6 000
zakup odczynników (w tym barwników fluorescencyjnych)	5 000
zakup żwirku do wypełnienia akwarium	1 000
Zakup specjalnych żarówek do oświetlenia pomieszczenia	2 000
wyjazdy terenowe w celu pobierania osobników z różnych regionów Polski (w tym diety, noclegi, paliwo)	10 000
drobny sprzęt laboratoryjny	3 000
zakup materiałów biurowych	2 500
koszty publikacji	9 000
konferencje	7 000
Equipment	Total [zł]
kamery do monitorowania akwariów podczas eksperymentów	7000
komputer z oprogramowaniem	3000
Salaries and benefits	Total [zł]
kierownik – 3 lata x 1500, główny wykonawca – 3 lata x 1000 zł, pomocnik techniczny 6 x 1500	99000

4.2.2. REVIEWS

Prof. Dr hab. Andrzej Łomnicki

Recenzja projektu

„Czy żaba trawna zjada swoje potomstwo? Wpływ doboru krewniaczego na zjawisko kanibalizmu”

Pytanie czy na dobór krewniaczy ma wpływ płeć, pokarm i zagęszczenie jest bez sensu, bo dobór krewniaczy o działa niezależnie od tych czynników. Natomiast te czynniki mogą powodować czy kanibalizm się ujawni czy nie. Różnice w kanibalizmie mogą po prostu wynikać z rozpoznawania lub nie rozpoznawania osobników spokrewnionych nawet jeśli działa dobór krewniaczy.

Ja nie pojmuję graficznego przedstawienia planu badań za pomocą strzałek i wyboru różnych alternatyw. To bardzo „naukowo” wygląda, ale miało by sens tylko wówczas, gdyby prowadzenie eksperymentu 2 było zależne do wyników eksperymentu 1 a eksperymentu 3 od wyniku eksperymentu 2. Tak by było wówczas gdybyśmy chcieli ustalić czy pokrewieństwo powoduje redukcje kanibalizmu, a dostateczna ilość pokarmu i niskie zagęszczenie uniemożliwia stwierdzenie kanibalizmu a tym samym jego redukcje przy spokrewnieniu. W takiej sytuacji spadek ilości pokarmu lub wzrost zagęszczenia pozwoliłyby na stwierdzenie redukcji kanibalizmu lub braku takiej redukcji. Nie pojmuję też dlaczego bogatsze w zasoby gamety samice miały by je skłaniać do mniejszego kanibalizmu. U ssaków większa wrogość samców wobec potomstwa wynika z braku pewności ojcostwa lub pewności braku spokrewnienia. To samo, może być u płazów.

Plan badań statystycznych też wygląda w sposób bardzo uczony, ale zupełnie nie pojmuję, która hipotezę ma testować analiza głównych składowych i w jaki sposób. A gdy już chcemy zrobić wrażenie na czytelniku projektu to nie należało przewidywać wykonania tych obliczeń w programach STATISTICA i PAST, ale użyć R, które to oprogramowanie daje najwięcej możliwości i jest najłatwiej dostępne.

Te badania wymagają bardzo dużego nakładu prac laboratoryjnych i uwzględnienia istnienia narzutów na płace (nawet o dzieło) i dlatego nakłady na płace powinny być co najmniej o 60% wyższe.

Podsumowując, nie jest to zły projekt, ale wymaga pewnych poprawek w jego prezentacji.

Mgr Dorota Lutyk

1. OCENA POZIOMU NAUKOWEGO BADAŃ

Projekt porusza bardzo ciekawe zagadnienie kanibalizmu u płazów i różnorodnych czynników, które mogą na niego wpływać. Autorzy stawiają kilka prostych i jasnych hipotez, które zamierzają przetestować za pomocą czterech eksperymentów na żabie trawnej (*Rana temporaria* L.). Dla każdej z hipotez przedstawiają swoje przewidywania wraz z uzasadnieniem.

Moje wątpliwości budzi używane w projekcie wielokrotnie hasło „dobór krewniaczy” i teza, że jest on związany z zachowaniami kanibalistycznymi. Zgodnie z definicją, z doboorem krewniaczym mamy do czynienia, kiedy osobnik zachowując się w określony sposób, zwiększa dostosowanie swojego krewniaka, nawet kosztem własnego. Jednakże autorzy jako zyski z

kanibalizmu przedstawiają jedynie zaspokojenie głodu, uzupełnienie strat energetycznych poniesionych podczas reprodukcji oraz zmniejszenie konkurencji. Wszystkie te pozytywne konsekwencje, jak podają autorzy, dotyczą kanibala, a nie jego krewnych. Nie powinniśmy więc mówić tu o doborze krewniactwem, a po prostu o wpływie różnych czynników, w tym pokrewieństwa, na zachowania kanibalistyczne żaby trawnej. Chyba, że „nie zjedzenie” swojego potomka uznamy za poświęcenie w celu zwiększenia jego dostosowania.

Zastanawiam się również, czy została wzięta pod uwagę możliwość, że młode żabki będą zjadały siebie nawzajem, i w jaki sposób może to zostać skontrolowane? W opisie metodyki oraz w kosztorysie pojawia się informacja o kamerach, które mają służyć do monitorowania akwariów. Jednak nigdzie nie pada wyjaśnienie w jaki sposób nagrania mają zostać wykorzystane i czemu mają służyć.

Ponadto, schemat przedstawiający plan badań (ryc. 1.) uważam za zbyt skomplikowany, aby miał ułatwić zrozumienie koncepcji, a więc zbędny. W zamian mógłby się pojawić bardzo prosty schemat objaśniający poszczególne eksperymenty.

Poza powyższymi uwagami projekt wydaje się przemyślany i zaplanowany skrupulatnie. Uważam go za interesujący i myślę, że po naniesieniu niezbędnych poprawek ma duże szanse powodzenia.

2. OCENA CHARAKTERU PROJEKTU ORAZ WPLYWU REALIZACJI NA ROZWÓJ DYSCYPLINY NAUKOWEJ

Wyniki proponowanego projektu mogą mieć istotny wkład w uzupełnienie luk w wiedzy na temat kanibalizmu u płazów. Pomogą zrozumieć jakie czynniki i w jaki sposób modyfikują tego typu zachowania. Przyjęcie hipotezy, że stopień pokrewieństwa ma tu znaczenie, byłoby także dowodem na istnienie zdolności do rozpoznawania krewnych przez dorosłe żaby, co nie zostało do tej pory wykazane.

3. OCENA MOŻLIWOŚCI WYKONANIA

Proponowane eksperymenty nie wydają się trudne do przeprowadzenia, a autorzy zaplanowali zakup niezbędnego sprzętu i materiałów. Pewnych trudności może dostarczyć zdobycie zgody komisji etycznej na odłowienie dorosłych osobników żab w okresie rozrodczym i przeprowadzenie na nich eksperymentów.

Kosztorys przewiduje wszystkie niezbędne wydatki, jednak sumaryczna kwota wydaje się zbyt duża, jak na projekt nie wymagający specjalistycznego sprzętu oraz nie przewidujący drogich analiz molekularnych.

4. MOCNE I SŁABE STRONY WNIOSKU

Mocne strony wniosku:

- ciekawy temat, uzupełniający ważne luki w wiedzy
- dobrze postawione, jasne hipotezy i przewidywania
- spójność i klarowność całości projektu

Słabe strony wniosku:

- niejasność w rozumieniu przez autorów kluczowego w projekcie hasła „dobór krewniaczy”
- wysokie koszty projektu

Mgr Weronika Banot

Ocena merytoryczna

Autorzy na podstawie klarownego opisu dotychczasowego stanu wiedzy wskazują na istnienie luki w poznaniu zjawiska kanibalizmu u płazów bezogonowych, której wypełnienie przyczyni się do lepszego zrozumienia znaczenia doboru krewniaczego, przynajmniej u płazów. Można by jeszcze dodać na początku krótką informację, czy - a jeśli tak, to z jakim skutkiem – to zjawisko było badane u innych gromad kręgowców, zarówno niższych ewolucyjnie, jak i wyższych.

Hipotezy projektu są jasno postawione, jednak przewidywania co do hipotezy 2 można by uzasadnić – pozostałe są uzasadnione od razu, a ta dopiero w następnym rozdziale (w. 77).

Eksperymenty są dobrze dobrane do testowania poszczególnych hipotez. Na uwagę zasługuje zamieszczony schemat badań, który pokazuje zależności pomiędzy poszczególnymi eksperymentami. Byłby on jednak bardziej przejrzysty, gdyby nie uwzględniał takich dróg alternatywnych, które i tak prowadzą do tego samego celu, np. strzałka od przewidywania dotyczącego pokrewieństwa mogłaby biec wprost to przewidywania dotyczącego płci. W opisach eksperymentów są niewielkie niejasności:

-Eksperyment 1 i 2. Czy osobniki niespokrewnione będą pochodziły od jednej pary, czy będą wybrane spośród potomstwa różnych par?

-Eksperyment 3a. Nie jest sprecyzowana płeć dorosłych osobników – czy wkładane są po 2 (lub 4, zależnie od grupy) osobniki tej samej płci czy różnych? W w. 108 jest wprowadzone napisane, że wybór płci będzie zależał od wyniku eksperymentu 1, jednak nie jest wyjaśnione postępowanie w przypadku stwierdzenia braku wpływu płci w eksperymencie 1.

Parametry hodowli są podane z imponującą szczegółowością. Trzeba by je tylko uzupełnić o literaturę, na podstawie której zostały ustalone.

Analiza wyników jest dokładnie zaplanowana.

Ocena kosztorysu

Koszty są szczegółowo i klarownie opisane.

Dla zachowania jednolitości pozycji w kosztorysie mogłyby być zapisane po polsku.

Ocena możliwości wykonania

Oceniam projekt jako jak najbardziej wykonalny, jednak należy najpierw rozważyć pewne kwestie:

Z jakiego konkretnie terenu będą odławiane osobniki wędrujące na rozród? Autorzy podają, że stanowiska będą od siebie oddalone – jak bardzo? Trzeba wziąć pod uwagę, że fenologia tego

gatunku różni się w zależności od środowiska i tak np. na obszarach górskich lub chłodniejszych rozród rozpoczyna się później niż na cieplejszych.

W jaki sposób osobniki będą łączone w pary, czy losowo? a jeśli tak, to należy wziąć pod uwagę wspomniane ograniczenia wynikające z różnych terminów przystępowania do rozrodu przez osobniki z różnych obszarów.

Mocne strony

- Uzasadnienie podjęcia badań o takiej tematyce dotychczasową wiedzą i brakami w niej.
- Zarówno hipotezy, jak i sposób ich testowania są jasno określone.
- Poszczególne eksperymenty są przemyślane i powiązane ze sobą – wyniki jednych wpływają na plan innych.

Słabe strony

- Pewne niedociągnięcia w założeniach dotyczących pozyskiwania zwierząt z terenu, które wymagają jednak jedynie niewielkiego dopracowania.

- Wątpliwości etyczne – możliwe problemy z uzyskaniem zgody na badania z powodu planowanego narażania kręgowców na znaczny stres.

- Drobne błędy, w tym językowe, wynikające z pewnością z krótkiego czasu na napisanie projektu,

a wymienione poniżej jedynie w celu ułatwienia autorom ich wychwycenia i poprawienia w ostatecznej wersji:

- interpunkcja – w wielu miejscach brakuje przecinków;
- w. 74 – myślę, że można by użyć polskiego terminu „rozpoznawanie krewnych” zamiast angielskiego „kin recognition”;
- w zdaniu rozpoczynającym się w w. 102 jest dwa razy powtórzone to samo (czy występuje rozpoznawanie krewnych)
- w. 112 – „zagęszczenia”
- bibliografia nie jest do końca ułożona alfabetycznie.

Mgr Patryk Komur

Ocena merytoryczna projektu

Projekt został napisany w prawidłowy sposób, bardzo klarownie i logicznie. Ma charakter naukowy oraz spełnia kryteria badań podstawowych. Zaprezentowany przez autorów projektu problem badawczy jest interesujący i daje duże możliwości badań zarówno zachowań płazów w określonych warunkach jak i badań nad teorią doboru krewniaczego. Duża liczba przedstawionych przez autorów hipotez wskazuje na istotny potencjał badawczy wybranego zagadnienia. Zaprezentowany stan wiedzy zdaje się na to również wskazywać. Przeprowadzenie de facto czterech eksperymentów pozwoli uzyskać różnorodne wyniki, które same w sobie będą stanowić dużą wartość.

Ocena kosztorysu

Kosztorys projektu jest rozpisany w sposób jasny i szczegółowy. Wydaje się natomiast że relatywnie dość wysoki koszt projektu można obniżyć. Jeśli płazy mają być odławiane w

przeciągu dwóch lat łącznie dwa razy, sądzę że koszty wyjazdów terenowych należy zmniejszyć. Podobnie w kwestii wynagrodzenia dla uczestników projektów – wynagrodzenia powinny być mniejsze gdyż przez dwa lata to one pochłaniają większą część wydatków.

Ocena możliwości wykonania

Projekt jest wykonalny przy obranych założeniach. Przedstawione metody badawcze umożliwiają przeprowadzenie planowanych doświadczeń. Liczby osobników, które mają zostać użyte do eksperymentów są wystarczające. Niewiadomymi dla mnie pozostają trzy kwestie: co jeśli na zakładanych stanowiskach nie zostaną odnalezione żaby?; osobniki nie będą chciały się krzyżować między sobą?; czy warunki eksperymentu poprzez swoją stresogenność nie będą indukowały nienormalnych zachowań u osobników? Wydaje się że powinny zostać przeprowadzone dodatkowo obserwacje w naturze na małą skalę.

Mocne strony wniosku

- Bardzo sprecyzowane metody
- Interesująca i rozbudowana tematyka
- Wysoka szansa powiedzenia się eksperymentów

Słabe strony wniosku

- Wysokie koszty projektu
- Brak kontroli analizowanych zagadnień w naturze

Mgr Aleksandra Rysiewska

Ocena merytoryczna projektu

Autorzy chcą przetestować cztery hipotezy przewidujące czy żaba trawna zjada swoje potomstwo, autorzy przeprowadzą w tym celu cztery eksperymenty w laboratorium. Eksperymenty zaprojektowane są w logiczny sposób oraz sformułowane przejrzysto i precyzyjnie tak aby każdy mógł dokładnie zrozumieć ich przebieg. Zaproponowany projekt badawczy porusza bardzo ciekawy problem nie tylko z punktu widzenia specjalistów w danej dziedzinie, ale również pozwoli lepiej zrozumieć ewolucyjne znaczenie zachowań kanibalistycznych u żaby trawnej. Cały projekt jest napisany w jasny i przejrzysty sposób, cel projektu dokładnie określony.

Ocena kosztorysu

Kosztorys projektu wydaje się być szczegółowy i przejrzysty. Zawiera wszystkie potrzebne elementy do przeprowadzenia projektu od zakupu aparatury aż po karmę dla zwierząt. Moim zdaniem można zmniejszyć liczbę osób pracujących przy projekcie, gdyż zachowania zwierząt można obserwować kamerą, która będzie nagrywać przez 24 godziny. W takim wypadku liczba osób powinna być mniejsza gdyż nie będzie to aż tak czasochłonne jak obserwacja bezpośrednia. Kolejną wątpliwość budzą koszty związane wyjazdami terenowymi w celu pobierania osobników z różnych regionów Polski. Jak zostało to zawarte w projekcie- dorosłe osobniki będą odławiane końcem marca/początkiem kwietnia, w różnych regionach. Uważam, kwota 10 000

jest kwotą zbyt dużą jak na odłowy potrzebnych osobników jednorazowo w ciągu trwania projektu.

Ocena możliwości wykonania

Oceniam, że projekt jest wykonywalny przy opisywanych założeniach dodatkowo wyniki mogą być opublikowane w prestiżowych czasopismach. Po zakończeniu wyniki projektu mogą być interesujące dla większego grona odbiorców zarówno dla specjalistów tej dziedziny jak również pozwoli lepiej poznać ewolucyjne znaczenie tego procesu.

Mocne strony

- interesujący temat projektu
- cały projekt napisany w sposób logiczny, przejrzysty i zrozumiały
- łatwość obserwacji zachowań płazów dzięki użyciu kamery
- duża ilość eksperymentów sprawdzająca kanibalizm pod różnym kątem

Słabe strony projektu

- duża ilość zatrudnionych osób przy projekcie. Zważając na fakt, że zachowanie zwierząt będzie nagrywane przez kamery działające przez całą dobę
- zbyt duża kwota jak na wyjazdy terenowe w celu pobierania osobników z różnych regionów Polski
- nie jest jasna metodyka odłowów, nie jest dokładnie podane czy odłowy będą prowadzone tylko w pierwszym roku czy także w drugim (z opisu metodyki badań wynika, że będą odławiane tylko raz na początku projektu)

4.2.3. FINAL VERSION OF PROJECT

Streszczenie projektu

Kanibalizm jest jednym z najbardziej kontrowersyjnych a zarazem częstym zjawiskiem w świecie zwierząt. Mimo kilkudziesięciu lat badań prowadzonych przez liczne grupy badawcze, występowanie tego zjawiska, mechanizmy jego działania oraz wpływające na nie czynniki nie zostały dostatecznie poznane. Jedną z grup zwierząt, u których powszechnie obserwuje się zachowania kanibalistyczne są płazy.

Na przykładzie żaby trawnej (*Rana temporaria* L.) będziemy badać zachowania kanibalistyczne, występujące wśród dorosłych osobników płazów. Interesuje nas również czy na kanibalizm wpływ mają takie czynniki jak pokrewieństwo, płeć, dostępność pokarmu oraz zagęszczenie osobników w próbie.

Przy pomocy czterech eksperymentów prowadzonych w warunkach laboratoryjnych przetestujemy następujące hipotezy: 1) pokrewieństwo wpływa na wybór ofiary; 2) płeć kanibala wpływa na zachowania kanibalistyczne; 3) dostępność pokarmu wpływa na zachowania kanibalistyczne; 4) zagęszczenie osobników w populacji ma wpływ na zachowania kanibalistyczne.

Wyniki badań przyczynią się do zwiększenia stanu wiedzy na temat rozpoznawania krewnych w zachowaniach kanibalistycznych u płazów. Pozwolą lepiej zrozumieć ewolucyjne znaczenie kanibalizmu.

Cel naukowy projektu

(jaki problem naukowy wnioskodawca podejmuje się rozwiązać, hipotezy badawcze)

Kanibalizm jest zachowaniem powszechnie występującym w przyrodzie. Przykładów można szukać w różnych grupach taksonomicznych, od bezkręgowców po kręgowce. Jest to zjawisko odgrywające dużą rolę w ekologii i ewolucji wielu gatunków (Elgar and Crespi, 1992). Wśród potencjalnych korzyści wynikających z kanibalizmu można wymienić m.in. zdobycie substancji odżywczych szczególnie w okresie głodu (lub jako częściowa rekompensata kosztów poniesionych na reprodukcję) oraz pozbywanie się potencjalnej konkurencji w walce o zasoby środowiska i przestrzeń życiową.

Zgodnie z regułą Hamiltona altruizm krewniaczy będzie utrzymywany przez dobór naturalny gdy koszt poniesiony przez altruistę będzie mniejszy niż zysk beneficjenta pomnożony przez współczynnik ich pokrewieństwa (Hamilton, 1964). Unikanie kanibalizmu wśród krewnych może być tłumaczone altruizmem krewniaczym, ponieważ kanibal który rozpoznaje i unika polowania na krewnych pomaga rozpowszechniać dzielone z nimi geny (Pfenning et al., 1999). Występowanie rozpoznawania krewnych u płazów zostało potwierdzone szeregiem badań (Waldman, 1986, 1990; Gamboa, 1991; Pfenning et al., 1993, 1999).

Celem naszych badań jest poznanie zachowań kanibalistycznych osobników dorosłych na przykładzie żaby trawnej – *Rana temporaria* L. Poprzez planowane eksperymenty chcemy sprawdzić czy na wybór ofiary mają wpływ czynniki takie jak: 1) pokrewieństwo; 2) płeć osobników dorosłych (kanibali); 4) dostępność pokarmu; 5) zagęszczenie populacji.

Będziemy testować hipotezy badawcze, że: 1) pokrewieństwo wpływa na wybór ofiary. Oczekujemy, że osobniki dorosłe częściej zjadają młode osobniki przeobrażone, które nie są z nimi spokrewnione (nie będące ich potomstwem). Unikanie zjadania krewnych wynika z działania altruizmu krewniaczego; 2) płeć kanibala wpływa na zachowania kanibalistyczne.

Przewidujemy, że kanibalami są częściej samce niż samice; 3) dostępność pokarmu wpływa na zachowania kanibalistyczne. Oczekujemy, że spadek dostępności pokarmu będzie stymulował występowanie aktów kanibalistycznych, w tym także wśród osobników spokrewnionych; 4) zagęszczenie osobników w populacji ma wpływ na zachowania kanibalistyczne. Przewidujemy, że wzrost zagęszczenia osobników będzie wywoływał wzrost liczby aktów kanibalistycznych, w tym także osobników spokrewnionych.

Znaczenie projektu

(dotychczasowy stan wiedzy, uzasadnienie podjęcia problemu badawczego, uzasadnienie nowatorskiego charakteru badań, znaczenie wyników projektu dla rozwoju danej dziedziny i dyscypliny naukowej oraz rozwoju cywilizacyjnego)

Jedną z grup kręgowców, charakteryzującą się powszechnie występującym kanibalizmem są płazy (Drewes and Altig, 1995; Toledo et al., 2006; Measey et al., 2015). Zjawisko to dotyczy różnych taksonów płazów, ogoniastych np. salamander a nade wszystko płazów bezogonowych, w tym różnych gatunków żab. Zjadanie osobników własnego gatunku ma miejsce na różnych etapach rozwoju tych kręgowców. Larwy zjadają jaja (Crossland et al., 2011) lub siebie nawzajem (Altig et al., 2007); dorosłe osobniki zjadają jaja (Beard, 2007), larwy oraz młodociane osobniki przeobrażone (Pizzatto and Shine, 2008).

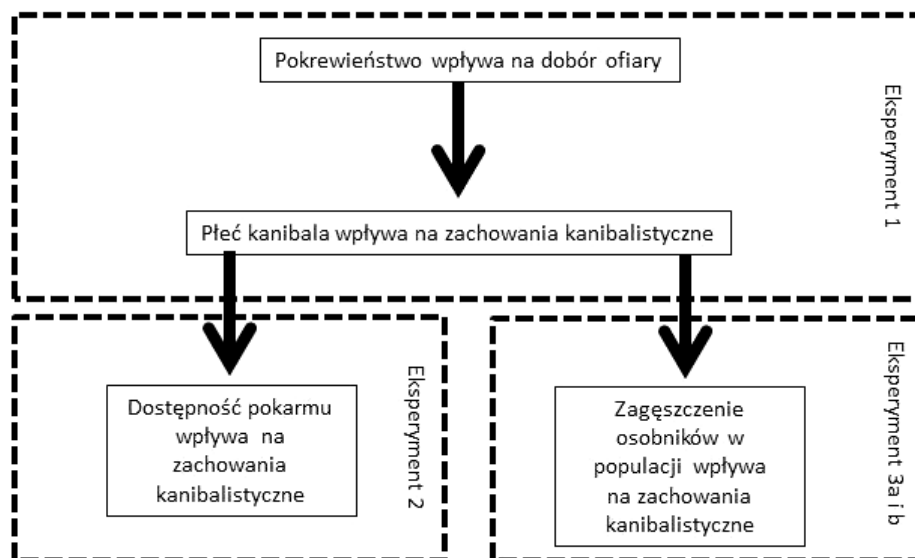
W literaturze można znaleźć przykłady rozpoznawania krewnych i występowania altruizmu krewniaczego w zjawiskach kanibalistycznych wśród larw płazów (Pfenning, 1990; Pfenning and Collins, 1993; Pfenning et al., 1999), w tym żab (Cornel et al., 1989; Waldman, 1984; Gamboa et al., 1991; Pfenning et al., 1993). Zjawisko to wydaje się mieć uzasadnienie, ponieważ na tym etapie rozwoju śmiertelność jest bardzo wysoka, a korzyści odżywcze przewyższają straty. Znacznie mniej informacji można znaleźć na temat kanibalizmu wśród osobników przeobrażonych (Pizzatto and Shine, 2008; Measey et al., 2015). Istnieją dowody na występowanie rozpoznania krewnych u osobników przeobrażonych (Cornell et al., 1989), ale brak informacji na temat rozpoznawania krewnych w zjawisku kanibalizmu, na tym etapie rozwoju osobników. W świecie zwierząt często zdarza się, że samce zjadają młode osobniki tego samego gatunku, również swoje potomstwo, zwłaszcza gdy mają wątpliwości co do pokrewieństwa (De Woody et al., 2001). Takie zachowanie wpływa na większe rozprzestrzenienie ich genów. Samice inwestują więcej energii w produkcję gamet, można więc przypuszczać, że rzadziej będą się u nich przejawiały zachowania kanibalistyczne. W literaturze brak jednak danych dotyczących wpływu płci na zachowania kanibalistyczne u płazów.

Żaba trawna to gatunek szeroko rozpowszechniony w Europie, jest zwierzęciem eurytypowym – cechuje ją szerokie spektrum środowiskowe. Osobniki dorosłe prowadzą lądowy tryb życia. Rozród zachodzi w wodzie, tam też żyją osobniki larwalne (Głowaciński and Rafiński, 2003). U osobników żaby trawnej zaobserwowano zjawisko kanibalizmu, w którym dorosłe żaby zjadały młode po przeobrażeniu (Młynarski, 1974). W ramach niniejszego projektu chcielibyśmy przeprowadzić szereg obserwacji zachowań związanych z kanibalizmem u żab trawnych w warunkach eksperymentalnych. Projekt pozwoli na dokładniejsze poznanie tego zjawiska, jego zależności od pokrewieństwa, płci oraz wybranych warunków środowiskowych. Przyczyni się to do wskazania ewolucyjnego znaczenia zachowań kanibalistycznych.

Koncepcja i plan badań

(ogólny plan badań, szczegółowe cele badawcze, wyniki badań wstępnych)

Załączony schemat (ryc. 1) przedstawia ogólny plan badań. Zaznaczono eksperymenty, w obrębie których będą sprawdzane poszczególne hipotezy.



Ryc.1 Plan badań

Celem pierwszego eksperymentu jest sprawdzenie, czy w dogodnych warunkach hodowlanych (stały pokarm, odpowiednio duża przestrzeń życiowa) dochodzi do zjadania młodocianych żab przez osobniki dorosłe. Chcemy sprawdzić przede wszystkim, czy osobniki dorosłe rozpoznają własne potomstwo? Czy ma to wpływ na wybór ofiary? Będziemy także obserwować jaka jest liczba zjadanych młodych przez samice, a jaka przez samce. Ma to na celu sprawdzenie czy płeć ma wpływ na zjawisko kanibalizmu. Do eksperymentu drugiego i trzeciego zostaną wprowadzone osobniki dorosłe (wybór płci będzie zależał od wyniku eksperymentu 1). Drugi eksperyment ma na celu sprawdzenie jak na zjawisko kanibalizmu wpływa dostępność pokarmu. Chcemy sprawdzić, czy głodzone osobniki chętniej będą spożywały młode żaby i czy będą wybierały własne potomstwo. Trzeci eksperyment ma na celu zbadanie wpływu zagęszczenia osobników dorosłych (3a) lub młodych (3b) na liczbę zachowań kanibalistycznych.

Pierwszy eksperyment zostanie wykonany w pierwszym roku trwania projektu, pozostałe w drugim. Wyniki będą zbierane i analizowane na bieżąco. W trzecim roku będziemy wykonywać analizy i opracowywać wyniki.

Metodyka badań

(sposób realizacji badań, metody, techniki i narzędzia badawcze, metody analizy i opracowania wyników, urządzenia i aparatura wykorzystywane w badaniach)

Dorosłe osobniki będą odławiane końcem marca/początkiem kwietnia podczas wędrówek na rozród. By zmniejszyć prawdopodobieństwo pokrewieństwa między osobnikami, będą one odławiane z oddalonych od siebie stanowisk. Przy odławianiu osobników, brana będzie pod uwagę fenologia rozrodu badanego gatunku. Odłowione zostanie 30 samców i 30 samic. Osobniki będą odławiane tylko raz (do wszystkich eksperymentów).

W warunkach laboratoryjnych każda para zostanie umieszczona w osobnym akwarium/pojemniku o pojemności 60 l. Przy łączeniu osobników w pary, będzie brana pod

uwagę fenologia rozrodu. Po zapłodnieniu jaj, osobniki dorosłe zostaną przeniesione do osobnych (30 l) pojemników wypełnionych w ¼ wilgotnym żwirem i niewielką ilością wody. W 60 l pojemnikach zostanie skrzek (od każdej pary osobno) w ilości 150–200 jaj. Jaja będą przetrzymywane w temperaturze wody 10–15° C, z fotoperiodem 14D:10N, kijanki po wykluciu będą trzymane w temperaturze 15–20° C. Woda w pojemnikach będzie wymieniana 2 razy w tygodniu. We wszystkich akwariach będą zapewnione takie same warunki. Wraz z liczbą przeobrażonych młodych żab, z akwarium będzie usuwana woda. Warunki hodowli zostały opracowane na podstawie informacji o ekologii żaby trawnej (Głowaciński and Rafiński, 2003). Młode osobniki biorące udział w eksperymentach będą w tym samym wieku i podobnej wielkości, wyeliminuje to możliwość zjadania się młodych żab nawzajem. Aby było możliwe określenie pokrewieństwa z osobnikami dorosłymi, młode żaby będą znakowane nietoksycznymi barwnikami fluorescencyjnymi. Barwniki będą wstrzykiwane w błonę pławną kończyny dolnej. Eksperymenty przeprowadzane będą w 30 l pojemnikach wypełnionych w 1/4 wilgotnym żwirem i niewielką ilością wody.

Eksperyment 1.

W 60 pojemnikach umieszczamy po jednym osobniku dorosłym (w 30 samice, w 30 samce). Do każdego z pojemników przełożone zostanie po 20 osobników młodocianych; w równej proporcji spokrewnione do niespokrewnionych (potomstwo różnych par). Eksperyment będzie trwał 10 dni. Po 10 dniach osobniki młodociane (spokrewnione i niespokrewnione z osobnikiem dorosłym) będą liczone.

Eksperyment 2.

W 20 pojemnikach umieszczamy po jednym osobniku dorosłym. W 10 z nich osobniki dorosłe przed przystąpieniem do eksperymentu, będą miały przez 7 dni ograniczone racje żywnościowe o połowę, w kolejnych 10 racje żywnościowe zostaną ograniczone o 75% (w stosunku do kontroli). Do każdego z pojemników przełożone zostanie po 20 osobników młodocianych; w równej proporcji spokrewnione do niespokrewnionych z osobnikiem dorosłym. W 10 pojemnikach umieszczamy po jednym osobniku dorosłym. Osobniki dorosłe przed przystąpieniem do eksperymentu będą karmione normalnie. Po 10 dniach trwania eksperymentu osobniki młodociane (spokrewnione i obce) będą liczone.

Eksperyment 3a.

W 10 pojemnikach umieszczamy po jednym osobniku dorosłym. Do każdego z pojemników przełożone zostanie po 20 osobników młodocianych (w równej proporcji spokrewnione do niespokrewnionych). W kolejnych 10 pojemnikach umieszczamy po dwa osobniki dorosłe oznakowane tym samym kolorem co ich potomstwo. Do każdego z pojemników przełożone zostanie po 20 osobników młodocianych (po 10 osobników potomnych każdego z rodziców wybranych do eksperymentu). Do kolejnych 10 pojemników zostanie przełożone po 4 osobniki dorosłe (oznakowane tymi samymi kolorami co ich potomstwo) i 20 osobników młodocianych (po 5 osobników potomnych każdej dorosłej żaby). Płeć osobników dorosłych będzie zależała od wyników eksperymentu 1 (samce, samice lub samce i samice w proporcji 1:1). Eksperyment będzie trwał 10 dni. Pojemniki będą filmowane przy użyciu kamer przez 24 godziny na dobę.

Eksperyment 3b.

W 10 pojemnikach umieszczamy po jednym osobniku dorosłym. Do każdego z pojemników przełożone zostanie po 20 osobników młodocianych (w równej proporcji spokrewnione do niespokrewnionych). W kolejnych 20 pojemnikach umieszczamy po 1 osobniku dorosłym. Do 10 pojemników dokładamy po 30 osobników młodocianych (w równej proporcji spokrewnione

do niespokrewnionych). Do kolejnych 10 pojemników po 40 osobników młodocianych (też w równej proporcji pokrewieństwa). Eksperyment będzie trwał 10 dni. Po 10 dniach osobniki młodociane (spokrewnione i niespokrewnione z osobnikiem dorosłym) będą liczone.

Analiza wyników

W planowanych eksperymentach będziemy mieć następujące zmienne zależne: stosunek zjedzonych do niezjedzonych osobników; procent zjedzonych spokrewnionych; procent zjedzonych niespokrewnionych osobników oraz stosunek zjedzonego własnego potomstwa do zjedzonych niespokrewnionych osobników. Zmienną grupującą będzie płeć osobników dorosłych, a w kolejnych eksperymentach głód lub zagęszczenie osobników w próbie.

Przy pomocy testu W Shapiro-Wilka sprawdzimy zgodność rozkładu badanych zmiennych z rozkładem normalnym. Jednorodność wariancji sprawdzimy testem Levene'a. Aby sprawdzić czy istnieją statystycznie istotne różnice między średnimi (dla poszczególnych zmiennych) pomiędzy badanymi grupami, przeprowadzimy analizę wariancji (ANOVA). Jako test post-hoc zastosujemy test Tukey'a HSD. W celu sprawdzenia czy pomiędzy zmiennymi zależnymi i zmiennymi grupującymi (dostępnością pokarmu i zagęszczeniem) istnieje korelacja, obliczymy współczynnik korelacji Pearsona i/lub nieparametryczny współczynnik korelacji rang Spearmana.

Literatura

1. Altig R, Whiles MR, Taylor CL. 2007. What do tadpoles really eat? Assessing the trophic status of an understudied and imperiled group of consumers in freshwater habitats. *Freshwater Biol* 52:386-395
2. Beard KH. 2007. Diet of the invasive frog, *Eleutherodactylus coqui*, in Hawaii. *Copeia* 2:281-291
3. Crossland MR, Hearnden MN, Pizzatto L, Alford RA, Shine R. 2011. Why be a cannibal? The benefits to cane toad, *Rhinella marina* [= *Bufo marinus*], tadpoles of consuming conspecific eggs. *Anim Behav* 82:775-782
4. DeWoody JA, Fletcher DE, Wilkins SD, Avise JC. 2001. Genetic documentation of filial cannibalism in nature. *PNAS* 98(9): 5090-5092
5. Drewes R, Altig R. 1996. Anuran egg predation and heterocannibalism in a breeding community of East African frogs. *Tropic Zool* 9:333-347
6. Gamboa GJ, Reeve HK, Holmes WG. 1991. Conceptual issues and methodology in kin-recognition research: a critical discussion. *Ethol* 88:109-127
7. Głowaciński Z, Rafiński J. 2003. Atlas płazów i gadów Polski. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Warszawa–Kraków
8. Hamilton WD. 1964. The genetical evolution of social behavior II. *J. Theor Biol* 7:17-52
9. Hamilton WD. 1964. The genetical evolution of social behaviour I. *J. Theor Biol* 7:1-16
10. Measey GJ, Vimercati G, F de Villiers FA, Mokhatla MM, Davies SJ, Edwards S, Altwegg R. 2015. Frog eat frog: exploring variables influencing anurophagy. *PeerJ* 3:e1204
11. Młynarski M. 1971. Płazy i gady Polski. PZWS, Warszawa
12. Pfennig DW, Collins JP. 1993. Kinship affects morphogenesis in cannibalistic salamanders. *Nature* 362:836-838

13. Pfenning DW, Collins JP, Ziemba RE. 1999. A test of alternative hypotheses for kin recognition in cannibalistic tiger salamanders. *Behav Ecol* 4:436-443
14. Pfenning DW, Reeve HK, Sherman PW. 1993. Kin recognition and cannibalism in spadefoot toad tadpoles. *Anim Behav* 46:87-94
15. Pfenning DW. 1990. Kin recognition among spadefoot toad tadpoles: a side-effect of habitat selection? *Evol* 44:785-798
16. Pizzatto L, Shine R. 2008. The behavioral ecology of cannibalism in cane toads (*Bufo marinus*). *Behav Ecol Sociobiol* 63:123-133
17. Toledo LF, Ribeiro R, Haddad CF. 2007. Anurans as prey: an exploratory analysis and size relationships between predators and their prey. *J Zool* 271:170-177
18. Waldman B. 1984. Kin recognition and sibling association among wood frog (*Rana sylvatica*) tadpoles. *Behav Ecol Sociobiol* 14:171-180
19. Waldman B. 1986. Chemical ecology of kin recognition in anuran amphibians. In: Duvall D, Muller-Schwarze D, Silverstein RM (eds) *Chemical signals in vertebrates* 4, Plenum Press, NY, pp 225-242
20. Waldman B. 1990. Kin recognition in amphibians. In: Hepper PG (ed) *Kin recognition*. Cambridge University Press, Cambridge

Kosztorys

Pozycja	Koszty w poszczególnych latach (zł)			Razem
	2017	2018	2019	
1. Koszty bezpośrednie, w tym:	81 000	44 500	44 000	169500
1/ Wynagrodzenia	34500	34500	30000	99000
2/ Aparatura	10 000	0	0	10000
3/ Inne koszty bezpośrednie	36 500	10 000	14 000	60500
2. Koszty pośrednie	14200	8900	8800	31900
Suma kosztów (1+2)	95200	53400	52800	201400

Inne koszty bezpośrednie	Razem [zł]
zakup 30 pojemników/akwariów o pojemności 60 l oraz 60 pojemników – 30 l do hodowli zwierząt	20 000
zakup karmy dla zwierząt (w tym dla kijanek, osobników młodocianych i dorosłych)	6 000
zakup odczynników (w tym barwników	5 000

fluorescencyjnych)	
zakup żwirku do wypełnienia akwarium	1 000
Zakup specjalnych żarówek do oświetlenia pomieszczenia	2 000
wyjazdy terenowe w celu pobierania osobników z różnych regionów Polski (w tym diety, noclegi, paliwo)	7 000
drobny sprzęt labolatoryjny	3 000
zakup materiałów biurowych	2 500
koszty publikacji	9 000
konferencje	7 000
Aparatura	Razem [zł]
kamery do monitorowania akwariów podczas eksperymentów	7000
komputer z oprogramowaniem	3000
Wynagrodzenia	Razem [zł]
kierownik – 3 lata x 1500, główny wykonawca – 3 lata x 1000 zł, pomocnik techniczny 6 x 1500	99000



4.3.BŁOTO NA NADKOLACH MIĘDZYNARODOWYCH SAMOCHODÓW TRANSPORTOWYCH JAKO ŹRÓDŁO NASION ROŚLIN

Authors: Patryk Komur & Aleksandra Rysiewska

4.3.1. FIRST VERSION OF PROJECT

Streszczenie projektu

Gatunki inwazyjne są to organizmy obcego pochodzenia, które wykazują negatywny wpływ na kolonizowaną florę. Mogą one prowadzić do trwałych zmian w środowisku naturalnym. Gatunki te są rozprzestrzeniane przy udziale człowieka świadomie i nieświadomie. Transport diaspor roślin przebiega najczęściej poprzez środki transportu, na ubraniach, w wodach balastowych czy na zwierzętach hodowlanych (Ansong 2013, Auffret i Cousins 2013). Jednak niewiadomo na jak dalekie dystanse poprzez transport lądowy ten proces zachodzi. Można się spodziewać, że błoto w szczególności na nadkolach samochodów ciężarowych pokonujących duże odległości stanowi istotne źródło nasion roślin. Naszym zadaniem jest testowanie następujących hipotez: (1) błoto z nadkoli samochodów ciężarowych pokonujących dalekie dystanse stanowi źródło nasion gatunków z odległych terenów; (2) transport nasion w błocie z południa na północ jest bardziej wydajny niż przeciwnym kierunkiem; (3) im większa odległość od punktu początkowego tym mniejsza ilość nasion danego gatunku ale ich większa różnorodność; (4) góry jako znacząca bariera dla nasion może być pokonywana w błocie na nadkolach ciężarówek. Źródłem prób które będą poddawane analizie laboratoryjnym będzie błoto pobierane z nadkoli. Pobór i analizy będą wykonywane w przeciągu dwóch lat w przeciągu 8 miesięcy od marca do października na trasie Ateny-Saloniki-Belgrad-Budapeszt-Kraków. Wyniki uzyskane podczas analiz pozwolą na przeprowadzenie porównań pomiędzy dwoma sezonami wegetacyjnymi, różnymi punktami kontrolnymi oraz całymi trasami zarówno w jednym jak i w drugim kierunku. Wykonane analizy będą prowadzone z naciskiem na obecność gatunków roślin wykazujących inwazyjny charakter.

Cel naukowy projektu

(jaki problem naukowy wnioskodawca podejmuje się rozwiązać, hipotezy badawcze)

Celem przedstawionego projektu badawczego jest zbadanie możliwości transportu nasion i pyłku roślin znajdujących się na nadkolach samochodów ciężarowych kursujących na odległe dystanse. Celem niniejszego projektu jest przetestowanie hipotezy czy błoto na nadkolach transportu międzynarodowego (ciężarówek - TIR) pomaga w rozprzestrzenianiu się gatunków roślin w szczególności obcych dla danego terenu oraz zwrócenie uwagi na uczestnictwo człowieka jako wektora nasion roślin. Zebrany materiał pozwoli sprawdzić hipotezę o spadku ilości nasion gatunków roślin wraz ze wzrostem ich różnorodności na coraz odleglejszych dystansach. Gdy zostanie stwierdzona obecność nasion roślin inwazyjnych dla terenów Polski będą one kiełkowane w celu sprawdzenia ich żywotności aby określić ich potencjalną szansę na skolonizowanie nowego obszaru i doprowadzenia do szkodliwej inwazji. Wykonanie poboru materiału w dwóch latach umożliwi odniesienie uzyskanych wyników do sytuacji meteorologicznej co pozwoli spekulować o istnieniu relacji między skalą przenoszenia diaspor

a warunkami pogodowymi. Dzięki uzyskanym wynikom będzie możliwość przetestowania hipotezy zwracającej uwagę że transport nasion w błocie z południa na północ jest bardziej wydajny niż z północy na południe. Wybrana trasa przebiega przez góry, będące barierą dla roślin. Dzięki transportowi w błocie na nadkolach nasion mogą one przekraczać tę granicę co jest kolejną testowaną hipotezą poprzez analizę zebranego materiału.

Znaczenie projektu

(dotychczasowy stan wiedzy, uzasadnienie podjęcia problemu badawczego, uzasadnienie nowatorskiego charakteru badań, znaczenie wyników projektu dla rozwoju danej dziedziny i dyscypliny naukowej oraz rozwoju cywilizacyjnego)

W czasach obecnych człowiek bardzo silnie oddziałuje na dziką przyrodę. Jego działania nierzadko doprowadzają do trwałym przemian w środowisku naturalnym. Jednym z takich czynników pochodzenia ludzkiego jest zawlekanie gatunków na niezasiedlone dotąd przez nie tereny na które nie miałyby szans przedostać się w sposób naturalny. Transport dalekodystansowy nierzadko prowadzi do rozprzestrzeniania obcych gatunków np. moczarka kandyjska zawleczona do Europy z Ameryki w wodach balastowych okrętów (Mjelde i in. 2012). Transport lądowy ma prawdopodobnie również duże znaczenie w przenoszeniu niewystępujących do tej pory organizmów na danym terenie (Pysek & Richardson 2007). Jednym z przykładów jest zawleczenie w latach 90-tych XX wieku motyla pasożytniczego kasztanowców *Cameraria ohridella* (szrotówek kasztanowcowiaczek) z terenów Południowych Półwyspu Bałkańskiego. Problem gatunków inwazyjnych wciąż pozostaje w centrum uwagi botaników i specjalistów od ochrony środowiska. Kwestia możliwości rozprzestrzeniania nasion przez samochody była wielokrotnie podnoszona na forum botaników, natomiast nie wykonano żadnych badań na większą skalę (Schmidt 1989, Ansong 2013). Najbardziej zbliżonymi badaniami były projekt z 1989 przeprowadzony w Niemczech, na krótkim dystansie lecz w długim okresie czasu (2 lata). Dodatkowo były przeprowadzane badania zawartości nasion znajdujących się na samochodach, ale nie były one odnoszone do jakiegokolwiek większego terenu np. Veldman i Putz (2010) badali skład błota na samochodach transportujących drewno w lasach tropikalnych na dystanse poniżej 500m. Nasze wyniki uzyskane z użyciem innowacyjnych metod mają szansę na pokazanie jak bardzo duży wpływ na współczesną przyrodę i jej przemiany ma działalność człowieka. Wyniki przedstawionych tu badań mają bardzo duży potencjał jeśli chodzi o publikacje w czołowych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, planowana liczba publikacji 5. Pierwszą wykonaną publikacją będzie podsumowanie pierwszego roku poboru prób i uzyskanych wyników. Następnie w 2 roku trwania projektu zostaną wykorzystane wyniki z drugiego roku do porównania z wynikami z pierwszego. Porównanie ma na celu sprawdzenie dwóch niezależnych sezonów wegetacyjnych. Na sam koniec wykonamy analizy uzyskanych gatunków ze wszystkich 2400 prób w odniesieniu do warunków pogodowych na poszczególnych punktach kontrolnych. Ostatnią planowaną publikacją będzie analiza wyników uzyskanych gatunków inwazyjnych roślin i sprawdzenie ich przeżywalności oraz ocena możliwości stworzenia zagrożenia dla środowiska naturalnego terytorium Polski. Przeprowadzone przez nas badania mogą stać się inspiracją dla innych zespołów badawczych.

Koncepcja i plan badań

(ogólny plan badań, szczegółowe cele badawcze, wyniki badań wstępnych)

Planowany eksperyment przeprowadzony zostanie w warunkach zarówno terenowych jak i w laboratoryjnych. W celu zwiększenia heterogeniczności próbek będą one pobierane na 5 stanowiskach kontrolnych w dwóch kombinacjach (dwóch kierunkach przejazdu) co pozwoli nam uzyskanie precyzyjnych wyników dających więcej informacji do analizy. W wyborze punktów docelowych i kontrolnych przejazdu kierowano się uzyskaniem maksymalnej różnorodności fitogeograficznej na trasie przejazdu ciężarówki. Trasa przebiega przez zarówno wysokie góry (Tatry) mogące stanowić istotną barierę dla nasion w naturze, jak i tereny stepowe (Węgry), odległe od morza (Serbia) oraz wybrzeża śródziemnomorskie (Grecja). Uzyskany materiał pozwoli na badania zmienności zawartości nasion w materiale na poszczególnych stanowiskach kontrolnych trasy ciężarówek i porównania składu prób z tego samego punktu kontrolnego. Całość będzie odniesiona do miesiąca zbioru, roku oraz warunków pogodowych a także kierunku trasy. Warunki pogodowe mogą mieć duży wpływ na ilość i różnorodność przenoszonych nasion. Spodziewane jest że przy tych samych warunkach pogodowych, w tych samych miesiącach będzie można zaobserwować podobne gatunki, w zbliżonej proporcji. Jednym z celów jest zbadanie możliwości dyspersji i przeżywalności nasion roślin inwazyjnych. W tym celu znalezione nasiona będą wybierane a następnie kiełkowane w celu sprawdzenia czy po przebyciu dalekiego dystansu w warunkach błota na nadkolu pozostają one wciąż żywe, zachowując zdolność do inwazji.

Badania terenowe zostaną przeprowadzone w przeciągu kolejnych 2 lat (2017-2018 roku) przez 8 miesięcy każdego roku (marzec- październik), natomiast badania laboratoryjne trwać będą 3 lata (2017-2019 roku). Dla badań terenowych okres dwóch lat jest optymalny gdyż będzie pozwalał na dokładne porównanie zawartości próbek w dwóch różnych sezonach wegetacyjnych.

Metodyka badań

(sposób realizacji badań, metody, techniki i narzędzia badawcze, metody analizy i opracowania wyników, urządzenia i aparatura wykorzystywane w badaniach)

Materiałem pobieranym do analizy będą próbki błota zebranego z nadkoli samochodów ciężarowych typu TIR w pięciu określonych miastach znajdujących się na jednej trasie. Trasa będzie przebiegać w obu kierunkach przez miasta określone danymi symbolami: Ateny(A)-Saloniki(B)-Belgrad(C)-Budapeszt(D)-Kraków(E). Wybór miast jest uwarunkowany możliwościami łatwiejszego poboru próbek z przyczyn logistycznych (parkingi w dużych miastach) oraz różnorodnością fitosocjologiczną. Punkty kontrolne są oddalone od siebie o podobne odległości. Długość trasy wynosi około 2000 tys km w jedną stronę. Będzie przeprowadzone 5 zbiorów prób na trasie w jedną stronę z każdej z 15 ciężarówek w każdym zakładanym miesiącu w 2 latach. Wszystkie ciężarówki pokonają w każdym miesiącu trasę z punktu E-A i A-E. Ilość przewidywanych próbek zebranych przez cały okres badań będzie wynosiła około 2400 sztuk. Zbiory będą się odbywać w każdym mieście na zdefiniowanym wcześniej parkingu dla ciężarówek. Próby będą zbierać przeszkoleni biolodzy, każda próba zostanie opisana miejscem, datą zbioru a także zanotowane zostaną warunki pogodowe (temperatura, opady). Próby zostaną przewiezione do Krakowa na Uniwersytet Jagielloński w

celu analizy. W Krakowie próby będą badane na obecność nasion. Następnie zestawiamy ze sobą wyniki z trasy jednej ciężarówki (5 punktów kontrolnych) z wynikami uzyskanymi z innych ciężarówek we wszystkich miesiącach w całym okresie badań.

Prace terenowe.

Pobór pojedynczej próby będzie wyglądał w sposób następujący: przeszkolony biolog przy pomocy szpatułki będzie zeskrobywać błoto z prawego, przedniego nadkola. Decyzje argumentujemy faktem, że przy prawostronnym ruchu ulicznym prawe przednie koło jest najbardziej ubłocone i narażone na kontakt z poboczem, co zostało zaobserwowane przez nas na wcześniejszych oględzinach samochodów ciężarowych. Materiał będzie zbierany do worków strunowych o rozmiarach 5x10cm, a następnie dokładnie opisywane na przygotowanych wcześniej formularzach znajdujących się na workach.

Prace laboratoryjne.

Procedura pracy w laboratorium będzie przebiegać według określonych reguł – próby na początku będą ważone, następnie każda próba będzie przepłukiwana wodą destylowaną na sitku o najmniejszej średnicy ok. 0,5mm. wody destylowanej. Materiał zatrzymany na sicie będzie dokładnie przepatrywany na obecność nasion. Jeżeli zostaną stwierdzone nasiona będą one opisywane i fotografowane. W przypadku wystąpienia nasion gatunków uznanych za inwazyjne dla Polski, zostaną one wybrane i umieszczone w fitotronie w celu dalszego rozwoju, co zapewni możliwość obserwacji ich kiełkowania aby ustalić żywotność nasion i przeżywalność siewek przez okres 3 tygodni.

Analiza statystyczna.

W przewidywanych analizach statystycznych główną zmienną będą stwierdzone gatunki roślin. Otrzymane wyniki ze składem gatunkowym zawartym w próbach będą porównywane z innymi zmiennymi: rok poboru prób, miesiąc, pogoda, temperatura oraz miejsce. Porównane zostaną ze sobą wyniki z obu kierunków z uwzględnieniem różnic geograficznych występujących w odwrotnych kolejnościach. W razie stwierdzenia gatunków inwazyjnych będą zestawiane z resztą wyników oraz ze sobą. Zostaną wykonane porównania zmian ilości gatunków inwazyjnych na trasie.

Literatura

Schmidt W., 1989, *Plant Dispersal by Motor Cars*, Vegetatio Vol. 80, No. 2: 147-152

Ansong M. i Pickering C., 2013, *Are Weeds Hitchhiking a Ride on Your Car? A Systematic Review of Seed Dispersal on Cars*, PLoS ONE 8(11):e80275. doi:10.1371/journal.pone.0080275

Veldman J. i Putz F., 2010, *Long-distance Dispersal of Invasive Grasses by Logging Vehicles in a Tropical Dry Forest*, Biotropica Volume 42, Issue 6: 697–703

Auffret A. i Cousins S., 2013, *Grassland connectivity by motor vehicles and grazing livestock*, Ecography Volume 36, Issue 10: 1150–1157

Pyšek P. i Richardson D. 2007, *Traits associated with invasiveness in alien plants: where do we stand?* In: W. Nentwig. Biological Invasions. Berlin, Germany: Springer-Verlag. p. 97-125

Mjelde M., Lombardo P., Berge D. i Johansen S., 2012, *Mass invasion of non-native*

Elodea Canadensis Michx. in a large, clear-water, species-rich Norwegian lake – impact on macrophyte biodiversity, Ann. Limnol. - Int. J. Lim. 48: 225–240

Koszty

Item	Funds for each budget year (zł)			
	2017	2018	2019	
1. Direct costs, including:	64 500	41 000	27 000	132500
1/ Salaries and benefits	20 000	20 000	20 000	60000
2/ Equipment	17 500	0	0	17500
3/ Other direct costs	27 000	21 000	7 000	55000
2. Indirect costs	9400	8200	5400	23000
Total costs (1+2)	73900	49200	32400	155500

4.3.2. REVIEWS

Prof. Dr hab. Adam Lomnicki

Recenzja projektu

„Błoto na nadkolach międzynarodowych samochodów transportowych jako źródło nasion roślin”

W tym projekcie najbardziej martwi brak przemyślenia i przedstawienia szczegółowej metodyki badawczej. Projekt działa według zasady: „zrobmy wiele badań przez dwa lata może coś z tego wyjdzie”. Jest to poszukiwanie igły w stogu siana. W opisie metod nie podano, w jakim stopniu badania ten będą uzgadniane z przedsiębiorstwami transportowymi. Bo nasiona które znajdziemy w nadkolach zależą od trasy jaką przybył ten samochód typu TIR, kiedy ostatnio był myty i błoto z nadkoli zostało usunięte, lub czy samochód nie był w ulewie, która usunęła błoto z nadkoli. Nie wiemy czy kierowcy będą chcieli udzielić nam tych informacji i w jakiej mierze możemy im ufać. Dlatego w oparciu o badanie błota w nadkolach nie można ustalić skąd pochodzą nasiona, bo równie dobrze mogą się utrzymywać w nadkolach ze znacznie wcześniejszych przejazdów (na przykład do Hiszpanii lub do północnej Afryki).

O tym, że nasiona mogą pochodzić z dalekich terenów nie można wnioskować z tych badań, wystarczy, że w nadkolach są nasiona roślin, które rosną daleko od Polski. I to wystarczy do sprawdzenia lub odrzucenia pierwszej hipotezy bez badań w kilku punktach kontrolnych. Nie wiem skąd pomysł testowania hipotezy, że transport nasion z południa na północ jest bardziej wydajny niż z północy na południe. Jeśli to wynika z faktu, że na południu jest więcej gatunków, to mamy do czynienia z produktem ubocznym fitogeografii, a nie z większą wydajnością w transporcie nasion. Jeśli chodzi o trzecia hipotezę to nie da się ukryć, że im dalej jedziemy tym więcej błota i nasion z nim razem odpada a znajdują się tam rośliny z różnych miejsc czyli różne. Ale to też można sprawdzić badając błoto w Polsce z ciężarówek jeżdżących na dłuższe lub krótsze trasy. Aby pokazać czy góry są czy nie są znaczącą barierą nie wystarczy badanie dużych samochodów ciężarowych, których dokładnych historii nie znamy, ale trzeba umyć dokładnie nadkola w naszym samochodzie, pojeździć po błocie na Słowacji tam gdzie bywają nasiona a potem wracać na dwa sposoby, albo przez bardzo górzysty teren albo przez niską przełęcz.

Opis tego jak wyniki będą opublikowane jest bardzo enigmatyczny i ogromnie optymistyczny. Podobnie enigmatyczny jest opis statystyki. Wiara w to, że statystyczne porównanie składu gatunkowego z miesiącem, pogodą, miejscem poboru i temperatura coś wyjaśni jest naiwnością. Tu potrzebne są bardziej szczegółowe hipotezy i opis testów które mają być używane. Dla przykładu, przy badaniu czwartej hipotezy trzeba przejechać samym samochodem na dwa sposoby i to kilka razy oraz zastosować test różnicy dla par związanych.

I wreszcie drobiazgi redakcyjne. W języku polskim najpierw pisze się imię a potem nazwisko (wiersze 7 i 8). Inaczej jest tylko w węgierskim i przy spisach alfabetycznych. Trzeba się zdecydować, albo piszemy łączymy dwóch autorów znakiem & (wiersz 66) albo litera ‘i’ (wiersz 64 i 173, 187). A jeśli jest dwóch autorów to przy cytowaniu w tekście dajemy oba nazwiska a nie jedno (wiersz 72). Wypląty **po** 830 zł a nie dla obydwu (w 193).

1. OCENA POZIOMU NAUKOWEGO BADAŃ

Projekt porusza bardzo ważny i związany z dużym zainteresowaniem wśród biologów problem gatunków inwazyjnych. Autorzy skupiają się na możliwym sposobie rozprzestrzeniania się inwazyjnych gatunków roślin oraz roli człowieka w tym procesie. Całość napisana jest poprawnie a proponowane badania mają charakter naukowy. Projekt przewiduje dwa sezony prac terenowych, co pozwoli na uzyskanie wystarczającej wielkości próby, a także wzięcie pod uwagę dodatkowych zmiennych.

Kilka elementów budzi jednak moje wątpliwości. Hipotezy wymienione w streszczeniu projektu nie są do końca równoznaczne z tymi opisanymi w akapicie „cele naukowe projektu”. Brakuje mi także wyjaśnienia hipotezy mówiącej o tym, że transport nasion z południa na północ jest bardziej wydajny niż w odwrotnym kierunku. Nie rozumiem, skąd autorzy wysnuli takie przypuszczenie?

Niespójny jest dla mnie opis wykorzystania danych pogodowych w różnych częściach wniosku. Trudno zrozumieć, czy autorów interesują różnice pomiędzy dwoma latami badań (trudno zakładać, że te różnice będą istotne), czy też zmiany warunków pogodowych w ciągu sezonu. W obydwu przypadkach zbieranie danych pogodowych tylko w momencie pobierania prób wydaje mi się zbyt wyrywkowe i niewystarczające zwłaszcza, kiedy tego typu szczegółowe dane, dla całej trasy przejazdu, można znaleźć bezpłatnie w internecie i ich zebranie nie wymagałoby wiele dodatkowego wysiłku.

Analizy statystyczne również są opisane dość chaotycznie i niejasno, szczególnie część dotycząca nasion gatunków inwazyjnych.

Pomimo tych kilku uwag uważam, że po naniesieniu niezbędnych poprawek w projekcie, wyniki badań mają szansę zostać opublikowane w wysoko punktowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

2. OCENA CHARAKTERU PROJEKTU ORAZ WPŁYWU REALIZACJI NA ROZWÓJ DYSCYPLINY NAUKOWEJ

Przetestowanie postawionych hipotez będzie stanowiło istotny wkład w dziedzinę nauk biologicznych. Może wskazać jeden z ważnych sposobów rozprzestrzeniania się roślin, w tym gatunków inwazyjnych, oraz rzucić światło na skalę tego problemu. Wyniki projektu mogą znacząco pomóc w podjęciu odpowiednich działań na rzecz ograniczenia rozprzestrzeniania się roślin inwazyjnych, a więc ochrony rodzimej flory.

Do tej pory nie prowadzono podobnych badań na tak dużą skalę, dlatego pod tym względem uważam projekt za nowatorski.

3. OCENA MOŻLIWOŚCI WYKONANIA

Proponowane analizy terenowe oraz laboratoryjne wydają się relatywnie proste do wykonania. Autorzy mają dostęp do niezbędnej aparatury, uwzględnili też zakup potrzebnego sprzętu. Jedyne, co budzi mój niepokój, to logistyka pobierania prób. Trudno mi sobie wyobrazić, czy będzie do tego celu co miesiąc wysyłana jedna osoba na każdy z punktów kontrolnych, czy też biolog pobierający próby będzie podróżował z konwojem 15 ciężarówek? W obu przypadkach koszty podróży i utrzymania takich osób wydają się być znaczne i nie jestem pewna, czy zostały uwzględnione w kosztorysie.

4. MOCNE I SŁABE STRONY WNIOSKU

Mocne strony wniosku:

- poruszona problematyka i wkład w dziedzinę wiedzy
- badania na szeroką skalę zarówno czasową jak i przestrzenną

Słabe strony wniosku:

- niejasności w metodyce
- brak uwzględnienia wszystkich kosztów

Mgr Weronika Banot

Recenzja projektu Patryka Komura i Aleksandry Rysiewskiej „**Błoto na nadkolech międzynarodowych samochodów transportowych jako źródło nasion roślin**”

Ocena merytoryczna

Temat odbieram jako bardzo ciekawy, dotyczy aktualnego zagadnienia wpływu działalności człowieka na rozprzestrzenianie się gatunków inwazyjnych. Koncepcja badań jest przejrzysta, przemyślana i przekonująca. Jednak proponowana analiza wyników jest nieco nieprecyzyjna: główną zmienną będą gatunki roślin, to znaczy ich liczba czy któraś z miar różnorodności gatunkowej? Jakie konkretnie analizy (modele) zostaną przeprowadzone?

Ocena kosztorysu

Wygląda na to, że wszystkie koszty związane z realizacją projektu zostały ujęte w kosztorysie. W ich uzasadnieniu można by dopisać, ile co kosztuje; ułatwiłoby to zrozumienie, dlaczego koszty różnią się w poszczególnych latach.

Sądzę, że dla zachowania jednolitości języka pozycje w tabeli mogłyby być wypisane po polsku.

Ocena możliwości wykonania

Uważam projekt za możliwy do zrealizowania. Uzasadnienie wszystkich elementów metodyki korzystnie wpływa na ocenę możliwości jej zastosowania.

Jeśli chodzi o planowane publikacje, sądzę, że dwie pierwsze (wymienione w w. 82-84) można by opublikować jako jedną, od razu porównując dwa lata, ponieważ przy publikacji danych

z samego pierwszego roku badań mogą pojawić się zarzuty, że jeden sezon to za mało (nie ma odniesienia). Poza tym w w. 81 jest napisane, że przewidzianych jest 5 publikacji, a wymienione są tylko 4: o pierwszym roku badań, o drugim roku, o wpływie warunków pogodowych i o gatunkach inwazyjnych.

Mocne strony

- Ciekawy i aktualny temat, a w dodatku nie nadmiernie skomplikowany do realizacji.
- Uzasadnienie badań oparte na przeglądzie literatury dotyczącej podejmowanego tematu i znalezieniu luki w wiedzy.
- Przejrzystość koncepcji badań.

Słabe strony

- Niejasny sposób weryfikacji hipotez z powodu nieprecyzyjnego zdefiniowania zmiennych zależnych.
- Drobne błędy, w tym językowe, wynikające z pewnością z krótkiego czasu na napisanie projektu, a wymienione poniżej jedynie w celu ułatwienia autorom ich wychwycenia i poprawienia w ostatecznej wersji:
 - interpunkcja – w wielu miejscach brakuje przecinków;
 - w. 12: sprecyzowałabym, że chodzi o „gatunki inwazyjne roślin”, ponieważ dalej jest napisane, że wywierają wpływ na florę;
 - w. 17: „nie wiadomo”;
 - w. 27: „w ciągu”;
 - w. 38: w zdanie wkradło się słowo „znajdujących”;
 - w. 43: w wyrażeniu „ilości nasion gatunków roślin” nie do końca jest jasne, czy chodzi o liczbę nasion z danego gatunku, czy o liczbę gatunków, choć z dalszego ciągu zdania można się domyśleć, że o tę pierwszą możliwość;
 - w. 69: „południowych” (małą literą)
 - w. 152: „średnicy” + niepotrzebne słowa „wody destylowanej”
 - w. 197: „wykorzystaniem”

Mgr Ewelina Klichowska

Ocena merytoryczna projektu

Projekt dotyczy ciekawego zagadnienia transportu nasion (w tym nasion roślin inwazyjnych) na duże odległości. Pomimo że badania nad rozprzestrzenianiem się gatunków inwazyjnych były już wielokrotnie poruszane w literaturze, projekt daje szansę na uzyskanie wyników które będą stanowić istotny wkład do tej wiedzy. Jak podkreślają autorzy brak jest wystarczających danych na temat wpływu transportu międzynarodowego (ciężarówek – TIR) na dyspersję nasion. Planowane badania mają polegać na zbiorze prób błota z nadkoli samochodów na trasie o długości 2000 km, a więc odległości jakiej nasiona nie byłyby w stanie pokonać bez udziału człowieka.

Warto również podkreślić że badania dotyczące rozprzestrzeniania się roślin inwazyjnych są ważne nie tylko ze względów biologicznych ale też ekonomicznych (koszty ponoszone na ich zwalczanie).

Autorzy powinni skupić się przede wszystkim na jasnym przedstawieniu celów i hipotez badawczych. Na przykład nie do końca jest dla mnie zrozumiałe co autorzy mają na myśli pisząc że transport nasion w błocie z południa na północ jest „bardziej wydajny” niż przeciwnym kierunku?

Temat projektu brzmi „Błoto na nadkolach międzynarodowych samochodów transportowych jako źródło nasion roślin”, a jednak autorzy skupiają się przede wszystkim na opisie roślin inwazyjnych. Może autorzy powinni się zastanowić czy projekt nie powinien dotyczyć wyłącznie transportu nasion roślin inwazyjnych i skupić się wyłącznie na tym?

Warto by było przytaczając definicję gatunków inwazyjnych zwrócić uwagę na ich ekspansywność (wers 12). Wydaje mi się też że autorzy pisząc o ochronie środowiska (wers 70) mają raczej na myśli ochronę przyrody. Dobrze byłoby uzupełnić literaturę o dodatkowe pozycje, udowodniłoby to że autorzy wiedzą o czym piszą a zakładane przez nich cele i hipotezy są ‘dobrze osadzone’ we wcześniejszych badaniach.

Zakładanie opublikowania aż 5 dobrych artykułów wydaje mi się dużym optymizmem, chociaż jak najbardziej życzę autorom takiego sukcesu☺. Uważam że po odpowiednich modyfikacjach, projekt mógłby przynieść rezultat w postaci publikacji w czasopismach impaktowych, jednak publikowanie osobno wyników z pierwszego roku badań wydaje mi się nienajlepszym pomysłem.

Metodyka

W opisie metodyki brakuje mi kilku informacji, min. badane na obecność nasion próbki powinny być takiej samej wielkości np. z każdego nadkola zostanie przebadana próbka o wadze 20 dag (łatwiej będzie dobrać odpowiednie metody statystyczne). W punkcie „Cel naukowy projektu” autorzy wspominają o badaniu możliwości transportu ziaren pyłku i nasion, natomiast jeśli się nie mylę w metodyce wspominają już tylko o nasionach. Radziłabym też przesiewać próbki przez szereg sit o różnej wielkości oczek (choćby po to żeby pozbyć się kamieni czy większych fragmentów roślin które będą utrudniać wybieranie nasion a z pewnością pojawią się w błocie). Dobrze byłoby gdyby autorzy podali informację na temat kluczy według których będą oznaczać nasiona (co nie jest taką prostą sprawą biorąc pod uwagę jak dużo gatunków roślin, z różnych stref klimatyczno-roślinnych wchodzi w grę). Ewentualnie można też zaprosić do współpracy jakiegoś specjalistę (np. zajmującego się bankiem nasion), który te nasiona oznaczy. Autorzy zamierzają pobrać bardzo dużą liczbę prób (aż 2400), warto by więc było poświęcić trochę czasu na dobranie odpowiednich metod statystycznych, które pozwolą je w pełni wykorzystać. Inne pytanie czy aż tak duża liczba prób jest potrzebna? Może badania byłyby możliwe do wykonania na mniejszej liczbie prób, co zaoszczędziłoby i czas i nakład środków finansowych (autorzy powinni przekonująco uzasadnić dlaczego tak dużo prób jest niezbędne).

Badanie żywotności nasion roślin inwazyjnych wydaje mi się dobrym pomysłem (nie sądzę by po kilku dniach drogi ich żywotność bardzo zmalała), jednak będzie to pośredni dowód na to że transport tirami może przyczyniać się do rozprzestrzeniania tych roślin. Warto by było przeszukać literaturę pod kontem żywotności nasion roślin inwazyjnych i zacytować ją w projekcie.

Ocena możliwości wykonania

Co prawda projekt wymaga jeszcze sporo pracy, jednak uważam że po odpowiednich modyfikacjach jest możliwy do wykonania a otrzymane wyniki mogą się okazać naprawdę interesujące. Na korzyść projektu przemawia prostota metod, które w połączeniu z „chwytliwym” tematem roślin inwazyjnych, dają potencjał opublikowania wyników w wysoko impaktowym czasopiśmie. Problem może sprawiać nawiązanie współpracy z firmą spedycyjną, chociaż gratyfikacja pieniężna z pewnością zwiększa prawdopodobieństwo takiej współpracy.

Ocena kosztorysu

Wszystkie planowane wydatki wydają się być uzasadnione, jednak dobrze by było je dokładniej wyjaśnić (np. nie wiemy jak duża gratyfikacja została przewidziana dla firmy spedycyjnej). Koszty wynagrodzenia dla osób zbierających próby powinny zostać przeniesione do rubryki ‘Salaries and benefits’. Kosztorys powinien zostać dokładniej przeliczony.

Mocne strony

- Ciekawy pomysł;
- Istotność problemu (temat ważny zarówno ze względów przyrodniczych jak i ekonomicznych);
- Prostota metod;
- Dobry pomysł ze sprawdzaniem żywotności nasion roślin inwazyjnych.

Słabe strony

- Brak jasno sformułowanych hipotez i celów badawczych;
- Nie do końca jasne metody (uwagi w rozdziale „metodyka”);
- Projekt wymaga dokładnego poprawienia błędów stylistycznych i literowych;
- Literatura wymaga uzupełnienia;
- Brak opisu metod statystycznych.

Mgr Michał Kobiałka

Ocena merytoryczna projektu

Przedstawiony projekt dotyczy interesujących zagadnień związanych z transportem nasion roślin przez samochody ciężarowe kursujące na dalekie dystanse. Projekt powinien dostarczyć odpowiedzi na szereg istotnych pytań związanych z uczestnictwem człowieka jako wektora nasion roślin, a w szczególności tych inwazyjnych.

Uważam, że przedstawione w projekcie hipotezy nie zostały dobrze sprecyzowane i stanowią raczej przewidywania twórców projektu. Zebrany materiał pozwoli sprawdzić hipotezę o wzajemnej korelacji ilości nasion gatunków roślin i ich różnorodności wraz ze zmianą dystansu. Hipotezę tą można rozbić na dwie: 1) wpływ przebytego dystansu na ilość nasion gatunku oraz 2) wpływ przebytego dystansu na różnorodność nasion. Prawdopodobnie będzie występował spadek ilości nasion, wzrost ich różnorodności przy dłuższych dystansach, ale jest to pewien założony scenariusz, który będziemy testować. Kolejna hipoteza, która nie została klarownie wypisana związana jest z możliwością kiełkowania nasion roślin inwazyjnych. Autorzy powinni przedstawić hipotezę badawczą, że transport nasion wpływa na proces kolonizacji nowych

terenów przez rośliny inwazyjne. Przewidujemy, że rośliny inwazyjne kolonizują nowy teren poprzez transport ich nasion, hipoteza ta sprawdzana będzie poprzez próbę kiełkowania pozyskanych nasion. Kolejna hipoteza zakłada, że kierunek transportu (pn-pd i pd-pn) ma wpływ na wydajność procesu przenoszenia nasion. Natomiast stwierdzenie, że transport z południa jest bardziej wydajny niż z północy jest już przewidywaniem. Co autorzy rozumieją pod pojęciem: „transport jest bardziej wydajny”? Należałoby wyjaśnić. Ostatnia hipoteza sprawdza wpływ bariery jaką stanowi pasmo góry na transport nasion. Przewidujemy, że nasiona mogą „przekraczać” tą barierę, nie wiemy w jakim stopniu, ale zawsze należy mieć na względzie hipotezę alternatywną, że nasiona „nie przekraczają tej bariery”.

Przedstawiony projekt jest nowatorski ponieważ związany jest z problemem transportu nasion, dotychczas nie badanym na większych dystansach. Zdecydowanie wpływa na rozwój nauki, uzupełnia braki w wiedzy w tym zakresie. Myślę, że uzyskane wyniki zostaną opublikowane, ale zakładanie wydania aż 5 oryginalnych prac wydaje być się niemożliwe. Nie każda hipoteza będzie stanowić oddzielną publikację. Wyniki z jednego sezonu muszą zostać zestawione z wynikami z drugiego. Szansę na oddzielne opublikowanie ma aspekt związany z roślinami inwazyjnymi.

Należy zwrócić uwagę na odpowiednio dobraną trasę, punkty o dużej różnorodności fitogeograficznej. Badania można byłoby poszerzyć o dodanie dodatkowej trasy, gdzie występują dla odmiany punkty o mniejszej różnorodności, brak pasma gór na trasie lub większa ilość terenów górskich między punktami. Interesujące byłoby również przeprowadzenie podobnych badań na trasie w innym kontynencie.

W opisie brakuje szczegółowych celów badań (Koncepcja i plan badań).

Należałoby dodać w opisie projektu dokładny sposób odnotowywania warunków pogodowych. Wiadomo, że odnotowanie temperatury będzie proste, ale jak zapisywane będą inne czynniki? Opady: brak lub występują. Czy intensywność opadów ma znaczenie (mżawka, obfity deszcz)? Słonecznie czy pochmurno? Na pełnym słońcu błoto łatwiej wyschnie.

Wydaje się, że również istotnym jest podanie godziny zbioru (rano, południe, wieczór), co nie zostało uwzględnione w opisie. Zastanawia mnie również fakt, czy różne rodzaje gleb w różnych miejscach nie wpłyną na osadzanie się błota, w tym nasion na nadkolach ciężarówek?

W opisie występują błędy stylistyczne, które należałoby zlikwidować. Literatura obejmuje jedynie 6 pozycji, należałoby poszerzyć ją o dodatkowe odniesienia.

Ocena kosztorysu

Kosztorys wydaje się skonstruowany zbyt pobieżnie. Powinny zostać dopisane kwoty do wymienionych elementów kosztorysu, oddzielnie dla lupy (chodziło o mikroskop stereoskopowy?), komputera, aparatu fotograficznego, także w obrębie innych kosztów bezpośrednich.

Koszty wynagrodzenia wydają się być niskie w stosunku do ogromu pracy włożonej w projekt. Suma tych kosztów została źle policzona ($830 \times 2 \text{ osoby} \times 12 \text{ miesięcy} = 19920$). Wynagrodzenia dla osób zbierających próby powinny zostać uwzględnione w wynagrodzeniach, nie w innych kosztach bezpośrednich. Należy zastanowić się, czy osoby te będą cudzoziemcami, czy obywatelami polski. Jeżeli z Polski należałoby doliczyć koszty podróży do punktów kontrolnych.

Zakup tuszu do drukarki uznałbym jako materiał biurowy i nie dodawał do aparatury. Wyróżniłbym oddzielnie materiały biurowe i drobny sprzęt laboratoryjny.

Ocena możliwości wykonania

Projekt ma szansę realizacji, lecz wymaga kilku zmian. Należy przede wszystkim jasno postawić cele, hipotezy badawcze, określić przewidywania, co nie powinno stanowić problemu, gdyż wydaje się, że autorzy mają doświadczenie oraz wiedzę w zakresie prowadzonych badań. Wyniki projektu mają szansę być opublikowane w czasopiśmie z Listy Filadelfijskiej, lecz maksymalnie w dwóch: jako całokształt badań oraz jako wpływ transportu nasion na rozprzestrzenianie roślin inwazyjnych. Wyniki częściowe np. z jednego sezonu wegetacyjnego mogą być prezentowane na konferencjach naukowych. Przedstawiona metodyka wydaje się być przejrzysta i odpowiednio dobrana do potrzeb projektu.

Mocne strony wniosku

- Niebadane dotychczas zależności
- Dobry wybór trasy i punktów kontrolnych
- Duże znaczenie projektu w aspekcie rozprzestrzeniania się roślin inwazyjnych

Słabe strony wniosku

- Niejasne hipotezy badawcze
- Brak szczegółowych celów badawczych (Koncepcja i plan badań)
- Pobieżny kosztorys

4.3.3. FINAL VERSION OF PROJECT

Streszczenie projektu

Gatunki inwazyjne roślin są to organizmy obcego pochodzenia, które wykazują negatywny wpływ na kolonizowaną faunę i florę. Mogą one prowadzić do trwałych zmian w środowisku naturalnym. Gatunki te są rozprzestrzeniane przy udziale człowieka świadomie i nieświadomie. Transport diaspor roślin przebiega najczęściej poprzez środki transportu, na ubraniach, w wodach balastowych czy na zwierzętach hodowlanych (Ansong i Pickering 2013, Auffret i Cousins 2013). Jednak nie wiadomo na jak dalekie dystanse poprzez transport lądowy ten proces zachodzi. Można się spodziewać, że błoto w szczególności na nadkolach samochodów ciężarowych pokonujących duże odległości stanowi istotne źródło nasion roślin. Naszym zadaniem jest testowanie następujących hipotez: (1) błoto z nadkoli samochodów ciężarowych pokonujących dalekie dystanse stanowi źródło nasion gatunków z odległych terenów; (2) transport nasion w błocie z południa na północ jest bardziej wydajny niż w innych kierunkach; (3) im większa odległość od punktu początkowego tym mniejsza ilość nasion danego gatunku; (4) im większa odległość od punktu początkowego tym większa różnorodność nasion gatunków roślin; (5) góry jako znacząca bariera dla nasion, może być pokonywana w błocie na nadkolach ciężarówek; (6) błoto z nadkoli samochodów ciężarowych stanowi źródło żywotnych i zdolnych do inwazji gatunków obcych. Źródłem prób, które będą poddawane analizom laboratoryjnym będzie błoto pobierane z nadkoli. Pobór i analizy będą wykonywane w trakcie dwóch lat w przeciągu 8 miesięcy od marca do października na trzech trasach: Ateny-Saloniki-Belgrad-Budapeszt-Kraków (trasa 1), Bordeaux-Dijon-Stuttgart-Wrocław-Kraków (trasa 2), Oslo-Gottenborg-Kopenhaga-Berlin-Kraków (trasa 3). Wyniki uzyskane podczas analiz pozwolą na przeprowadzenie porównań pomiędzy dwoma sezonami wegetacyjnymi, różnymi punktami kontrolnymi oraz całymi trasami zarówno w jednym jak i w drugim kierunku. Gdy zostanie wykazany transport nasion w błocie na wszystkich trasach będzie to mocny dowód że transport drogowy jest ważnym sposobem dyspersji diaspor roślin przy udziale człowieka. Wykonane analizy będą prowadzone z naciskiem na obecność gatunków roślin wykazujących inwazyjny charakter.

Cel naukowy projektu

(jaki problem naukowy wnioskodawca podejmuje się rozwiązać, hipotezy badawcze)

Celem przedstawionego projektu badawczego jest zbadanie możliwości transportu nasion roślin znajdujących się w błocie poprzez samochody ciężarowe kursujące na odległe dystanse w różnych kierunkach. Zadaniem niniejszego projektu jest przetestowanie hipotezy (1) czy błoto na środkach transportu międzynarodowego (ciężarówek - TIR) pomaga w rozprzestrzenianiu się nasion gatunków roślin obcych dla danego, badanego terenu oraz zwrócenie uwagi na uczestnictwo człowieka jako wektora nasion roślin. Głównym przewidywaniem projektu jest stwierdzenie że taki proces ma miejsce. Zebrany materiał pozwoli sprawdzić czy istnieje relacja pomiędzy spadkiem ilości nasion gatunków roślin wraz ze wzrostem ich różnorodności na coraz odleglejszych dystansach (hipotezy 2 i 3). W tym celu zostaną przeanalizowane pobrane próby aby potwierdzić lub wykluczyć tą hipotezę. Gdy zostanie stwierdzona obecność nasion roślin inwazyjnych dla terenów Polski będą one kielkowane w celu sprawdzenia hipotezy 6 poprzez zbadanie ich żywotności po przebyciu określonego dystansu w celu określenia ich potencjalnych

szans na skolonizowanie nowego obszaru i doprowadzenia do szkodliwej inwazji. Wykonanie poboru materiału w dwóch latach umożliwi odniesienie uzyskanych wyników do sytuacji meteorologicznej co pozwoli spekulować o istnieniu relacji między skalą przenoszenia diaspor a warunkami pogodowymi. Dzięki uzyskanym wynikom będzie możliwość przetestowania hipotezy (2) zwracającej uwagę że transport nasion w błocie z południa na północ jest bardziej wydajny niż z północy na południe. Oczekujemy że stwierdzimy wspomnianą korelację w dwóch wariantach: większa liczba gatunków na południu Europy niż w jej środkowej części spowoduje że ciężarówki z Aten jadące do Krakowa będą transportować więcej gatunków roślin niż w przeciwnym kierunku oraz że identyczna relacja zajdzie na trasie Oslo-Kraków, w którym to wypadku samochody jadące z Krakowa dostarczą większą liczbę gatunków roślin. Na trasie 2 oczekujemy podobnych liczb gatunków w obu kierunkach. Trasa 1 przebiega przez góry, będące barierą dla roślin w środowisku naturalnym. Hipoteza 5 mówi że dzięki transportowi w błocie na nadkolach nasion mogą one przekraczać tę granicę. Hipoteza 5 będzie testowana poprzez analizę zebranego materiału. Trasy 2 i 3 nie przebiegają przez góry i będą jej stanowić kontrolę.

Znaczenie projektu

(dotychczasowy stan wiedzy, uzasadnienie podjęcia problemu badawczego, uzasadnienie nowatorskiego charakteru badań, znaczenie wyników projektu dla rozwoju danej dziedziny i dyscypliny naukowej oraz rozwoju cywilizacyjnego)

W czasach obecnych człowiek bardzo silnie oddziałowuje na dziką przyrodę. Jego działania nierzadko doprowadzają do trwałym przemian w środowisku naturalnym. Jednym z takich czynników pochodzenia ludzkiego jest zawlekanie gatunków na niezasiadlone dotąd przez te gatunki tereny, na które nie miałyby szans przedostać się w sposób naturalny. Transport dalekodystansowy nierzadko prowadzi do rozprzestrzeniania obcych gatunków np. moczarka kandyjska zawleczona do Europy z Ameryki w wodach balastowych okrętów (Mjelde i in. 2012). Transport lądowy ma prawdopodobnie również duże znaczenie w przenoszeniu niewystępujących do tej pory organizmów na danym terenie (Pyšek i Richardson 2007). Jednym z przykładów jest zawleczenie w latach 90-tych XX wieku motyla pasożytniczego kasztanowców *Cameraria ohridella* (szrotówek kasztanowcowiaczek) z terenów południowych Półwyspu Bałkańskiego. Problem gatunków inwazyjnych wciąż pozostaje w centrum uwagi botaników i specjalistów od ochrony środowiska. Kwestia możliwości rozprzestrzeniania nasion przez samochody była wielokrotnie podnoszona na forum botaników, natomiast nie wykonano żadnych badań na większą skalę (Schmidt 1989, Ansong i Pickering 2013). Najbardziej zbliżonymi badaniami był projekt z 1989 przeprowadzony w Niemczech, na krótkim dystansie lecz w długim okresie czasu (2 lata). Dodatkowo były przeprowadzane badania zawartości nasion znajdujących się na samochodach, ale nie były one odnoszone do jakiegokolwiek większego terenu np. Veldman i Putz (2010) badali skład błota na samochodach transportujących drewno w lasach tropikalnych na dystansie poniżej 500m. Nasze wyniki uzyskane z użyciem innowacyjnych metod mają szansę na pokazanie jak bardzo duży wpływ na współczesną przyrodę i jej przemiany ma działalność człowieka. Wyniki przedstawionych tu badań mają bardzo duży potencjał jeśli chodzi o publikacje w czołowych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, planowana liczba publikacji 3. Pierwszą planowaną publikacją będzie podsumowanie wyników z dwóch lat. Kolejną publikacją będzie przedstawienie wyników eksperymentu nad kiełkowalnością nasion roślin inwazyjnych. Trzecią planowaną publikacją będzie zaprezentowanie wyników na temat przewidywań odnośnie gór jako bariery, którą

nasiona roślin mogą pokonać tylko przy udziale człowieka. Przeprowadzone przez nas badania mogą stać się inspiracją dla innych zespołów badawczych.

Koncepcja i plan badań

(ogólny plan badań, szczegółowe cele badawcze, wyniki badań wstępnych)

Planowane badania w naszym projekcie zostaną przeprowadzone w warunkach zarówno terenowych jak i w laboratoryjnych. W celu zwiększenia heterogeniczności próbek będą one pobierane na trzech trasach. Każda trasa składa się ze stanowiska początkowego na którym nie będą pobierane próby i czterech stanowisk kontrolnych w dwóch kierunkach przejazdu, na których będą one pobierane. Pozwoli nam to na uzyskanie precyzyjnych wyników dających więcej informacji do analizy. W wyborze punktów docelowych i kontrolnych przejazdu kierowano się uzyskaniem maksymalnej różnorodności fitogeograficznej na trasie przejazdu ciężarówek. Trasy przebiegają przez zarówno wysokie góry mogące stanowić istotną barierę dla nasion w naturze, tereny stepowe, tereny odległe od morza, pola uprawne, lasy oraz wybrzeża śródziemnomorskie. Uzyskany materiał pozwoli na badania zmienności zawartości nasion w materiale na poszczególnych stanowiskach kontrolnych trasy ciężarówek i porównania składu prób z tego samego punktu kontrolnego. Całość będzie odniesiona do miesiąca zbioru, roku a także kierunku trasy. Jednym z celów jest zbadanie możliwości dyspersji i przeżywalności nasion roślin inwazyjnych. W tym celu znalezione nasiona będą wybierane a następnie kiełkowane w celu sprawdzenia czy po przebyciu dalekiego dystansu w warunkach błota na nadkolu pozostają one wciąż żywe, zachowując zdolność do inwazji.

Badania terenowe zostaną przeprowadzone w przeciągu kolejnych 2 lat (2017-2018 roku) przez 8 miesięcy każdego roku (marzec- październik), natomiast badania laboratoryjne trwać będą 3 lata (2017-2019 roku). Dla badań terenowych okres dwóch lat jest optymalny gdyż będzie pozwalał na dokładne porównanie zawartości próbek w dwóch różnych sezonach wegetacyjnych.

Metodyka badań

(sposób realizacji badań, metody, techniki i narzędzia badawcze, metody analizy i opracowania wyników, urządzenia i aparatura wykorzystywane w badaniach)

Materiałem pobieranym do analizy będą próbki błota zebranego z nadkoli samochodów ciężarowych typu TIR w czterech określonych punktach kontrolnych znajdujących się na jednej z trzech tras. Nawiązana zostanie współpraca z zaufanymi i profesjonalnymi firmami logistycznymi: TRANS-GREK – trasa 1; TRANSFRANS – trasa 2; WIKINGTRANS – trasa 3. Firmy otrzymają dwa razy gratyfikację jako zapłatę za udzieloną pomoc w badaniach. Trasy będą przebiegać w obu kierunkach przez punktu kontrolne określone danymi symbolami:

Trasa 1: Ateny(1A)-Saloniki(1B)-Belgrad(1C)-Budapeszt(1D)-Kraków(1E).

Trasa 2: Bordeaux(2A)-Dijon(2B)-Stuttgart(2C)-Wrocław(2D)-Kraków(2E).

Trasa 3: Oslo(3A)-Gottenborg(3B)-Kopenhaga(3C)-Berlin(3D)-Kraków (3E).

Wybór miast jest uwarunkowany możliwościami łatwiejszego poboru próbek z przyczyn logistycznych (parkingi w dużych miastach) oraz różnorodnością fitosocjologiczną, a także tym że trasy ciężarówek firm logistycznych przebiegają tylko zawsze przez te same miasta. Nie ma możliwości zmiany trasy oraz przeniesienia materiału błota z innego kraju. Punkty kontrolne na wyznaczonej trasie są oddalone od siebie o podobne odległości. Długości tras wynoszą około

2000 tys km w jedną stronę. Będą przeprowadzone cztery zbiory prób na każdej trasie w obie strony ze wszystkich 15 ciężarówek w każdym zakładanym miesiącu w 2 latach. Otrzymamy łącznie 120 prób miesięcznie z wszystkich tras. Ilość przewidywanych próbek zebranych przez cały okres badań będzie wynosiła około 1920 sztuk. W stanowiskach startowych będą dokładnie myte nadkola tirów. Na każdej trasie będzie kursować pięć ciężarówek w obie strony. Ciężarówki pokonają w każdym miesiącu trasę z punktu E-A i A-E. Zbiory będą się odbywać w każdym mieście na zdefiniowanym wcześniej parkingu dla ciężarówek. Próby będą zbierać przeszkoleni biolodzy, każda próba zostanie opisana miejscem i datą zbioru. Kierowcy ciężarówek będą przewozić do Krakowa opisane próby, aby usprawnić dostarczanie materiału i znacząco zmniejszyć koszty projektu. Próby zostaną przewiezione do Krakowa na Uniwersytet Jagielloński w celu analizy. Próby będą badane na obecność nasion. Następnie zestawiamy ze sobą wyniki wszystkich ciężarówek z czterech punktów kontrolnych z wynikami w każdym miesiącu przez cały okres badań.

Prace terenowe.

Pobór pojedynczej próby będzie wyglądał w sposób następujący: przeszkoleni biolodzy z zagranicy, z zaprzyjaźnionych uniwersytetów (po jednym na czterech punktach kontrolnych, oprócz punktów początkowych) przy pomocy szpatułki będą zeskrobywać błoto z prawego, przedniego nadkola. Decyzję argumentujemy faktem, że przy prawostronnym ruchu ulicznym prawe przednie koło jest najbardziej ubłocone i narażone na kontakt z poboczem, co zostało zaobserwowane przez nas na wcześniejszych oględzinach samochodów ciężarowych. Materiał będzie zbierany do worków strunowych o rozmiarach 5x10cm, a następnie dokładnie opisywane na przygotowanych wcześniej formularzach znajdujących się na workach.

Prace laboratoryjne.

Procedura pracy w laboratorium będzie przebiegać według określonych reguł – próby na początku będą ważone w celu późniejszej standaryzacji wyników. Każda próba będzie przepłukiwana dwukrotnie wodą destylowaną na sitach o dwóch średnicach oka. Najpierw zostanie użyte sito o średnicy 0,5cm w celu zatrzymania większych zanieczyszczeń, a następnie sito o średnicy oka 0,5mm w celu odsiania drobnego pyłu a zarazem zatrzymania nasion. Materiał znajdujący się na sicie będzie dokładnie przepatrywany pod kątem obecności nasion. Jeżeli zostaną stwierdzone nasiona będą one opisywane i fotografowane. W przypadku wystąpienia nasion gatunków uznanych za inwazyjne dla Polski, zostaną one wybrane i umieszczone w fitotronie w celu dalszego rozwoju, co zapewni możliwość obserwacji ich kiełkowania aby ustalić żywotność nasion i przeżywalność siewek przez okres 3 tygodni.

Analiza wyników.

W przewidywanych analizach wyników główną zmienną będą stwierdzone gatunki roślin. Otrzymane wyniki składu gatunkowego z liczebnością nasion porównywane z innymi zmiennymi: kierunek przejazdu, rok poboru prób, miesiąc oraz miesiąc. Porównane zostaną ze sobą wyniki z obu kierunków wszystkich tras z uwzględnieniem różnic geograficznych występujących w obu kierunkach przejazdów. W razie stwierdzenia gatunków inwazyjnych zostaną przygotowane statystyki ich liczebności oraz procent nasion, z których wykiełkowały żywe osobniki. Żywe osobniki będą oceniane pod kątem ich jakości i szans na dalszy rozwój. Zostaną wykonane porównania zmian ilości gatunków inwazyjnych na trasie.

Literatura:

- Schmidt W., 1989, *Plant Dispersal by Motor Cars*, Vegetatio Vol. 80, No. 2: 147-152
- Ansong M. i Pickering C., 2013, *Are Weeds Hitchhiking a Ride on Your Car? A Systematic Review of Seed Dispersal on Cars*, PLoS ONE 8(11):e80275. doi:10.1371/journal.pone.0080275
- Veldman J. i Putz F., 2010, *Long-distance Dispersal of Invasive Grasses by Logging Vehicles in a Tropical Dry Forest*, Biotropica Volume 42, Issue 6: 697–703
- Auffret A. i Cousins S., 2013, *Grassland connectivity by motor vehicles and grazing livestock*, Ecography Volume 36, Issue 10: 1150–1157
- Pyšek P. i Richardson D. 2007, *Traits associated with invasiveness in alien plants: where do we stand?* In: W. Nentwig. Biological Invasions. Berlin, Germany: Springer-Verlag. p. 97-125
- Mjelde M., Lombardo P., Berge D. I Johansen S., 2012, *Mass invasion of non-native Elodea Canadensis Michx. in a large, clear-water, species-rich Norwegian lake – impact on macrophyte biodiversity*, Ann. Limnol. - Int. J. Lim. 48: 225–240

Koszty

Rodzaj kosztów	Środki na poszczególne lata (zł)			Razem
	2017	2018	2019	
1. Koszty bezpośrednie:	86 200	62 900	33 500	182600
1/ Wynagrodzenia	53 400	53 400	24 000	130800
2/ Aparatura	19 500	0	0	19500
3/ Inne	13 300	9 500	9 500	32300
2. Koszty pośrednie	13340	12580	6700	32620
Pelen koszt (1+2)	99540	75480	40200	215220

Koszty bezpośrednie:

1/Wynagrodzenia:

Pensja dla 2 kierowników projektu wynoszą: 2 x1000 zł x12miesiący= 24 000 zł

Wynagrodzenie dla czterech osób zbierających próbki: 12 x 300 zł x 8miesiący= 28 800 zł

Wynagrodzenie dla zaufanych firmy logistycznych: TRANSGREK, TRANSFRANS, WIKINGTRANS: 30 000 zł

2/Aparatura:

Mikroskop stereoskopowy x 2: 15 000 zł

Komputer stacjonarny z oprogramowaniem: 4000 zł

Aparat fotograficzny: 500zł

Relatywnie niskie koszty aparatury są spowodowane wykorzystaniem fitotronów z Zakładu Embriologii i Cytologii Roślin UJ.

3/ Inne koszty bezpośrednie obejmują:

-koszt sprzętu laboratoryjnego: pipety jednorazowe = 400zł; zlewki i kolby = 1 300zł; sita o dwóch rozmiarach ok = 1 500 zł; woreczki strunowe = 9 000 zł; szpatułki = 250 zł; woda destylowana = 350 zł:

-artykuły biurowe (papier, pisaki, tusz do drukarki): 500 zł

-wyjazd na dwie konferencje dla dwóch osób w drugim i trzecim roku: 10 000 zł

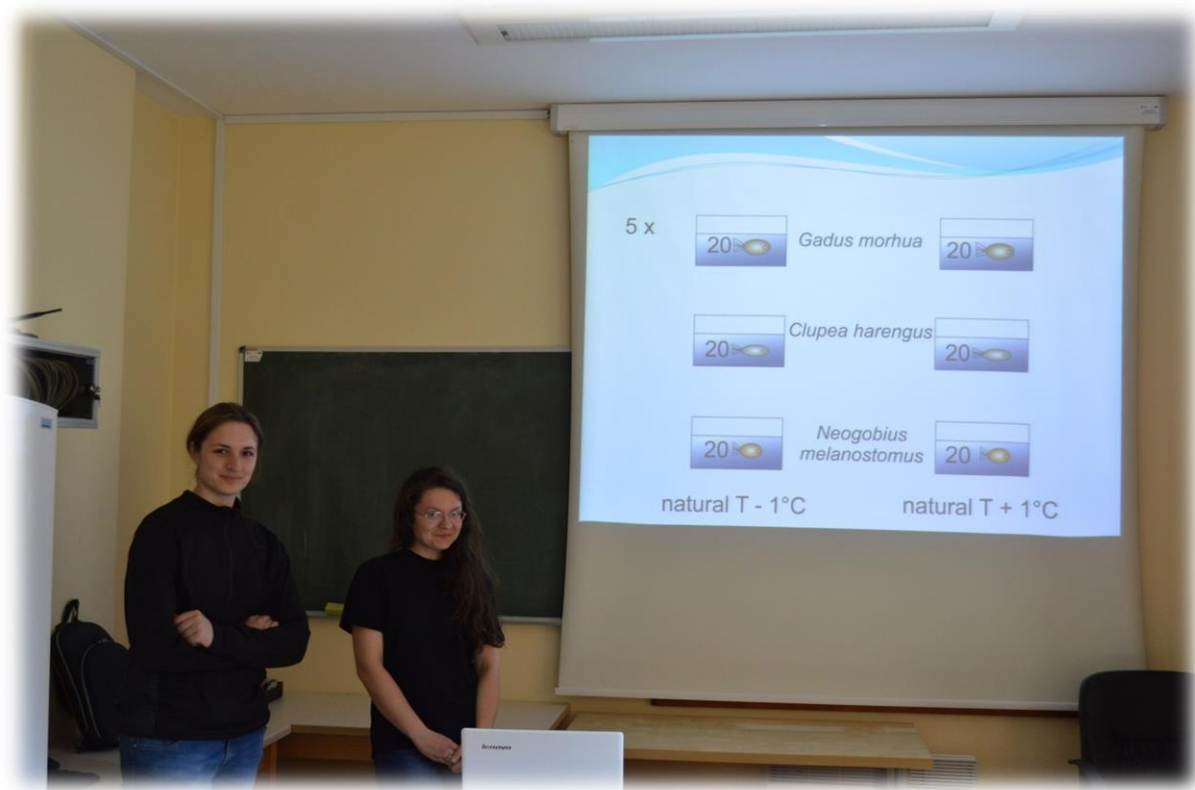
-korekty językowe oraz wydania publikacji w drugim i trzecim roku: 9 000 zł



5. PHOTO GALLERY



Ola & Patryk



Michela & Weronika



Ewelina & Michał



Ola and Patryk try to keep a serious face...



Michał pretends he explain something important, Ewelina pretends she listen, Michela – second Plan Master



Weronika is proud of her schema...



Top row from left: Patryk and Michał, below: Joanna, Weronika, Ola, Ewelina and Michela



Do not forget that the course took place in a beautiful spot... Michał, Ewelina and Magda on the lookout tower – in the background Tatry Mountains☺