

Instytut Nauk o Środowisku, Uniwersytet Jagielloński

**WARSZTATY METODOLOGICZNE  
BIOLOGII EWOLUCYJNEJ**

Ochotnica, 18-24 października 2003

## SPIS TREŚCI

Organizatorzy i Recenzenci.....	3
Uczestnicy Warsztatów.....	3
Tematy proponowane przez uczestnikó.....	3
Kiksy.....	4
Projekty i Recenzje	
„Wpływ obecności drapieżnika i typu zbiornika na współwystępowanie dwóch gatunków rozwielitki <i>Daphnia cuculata</i> i <i>Daphnia hyliana</i> ” -Maciej Dańko, Maciej Pabijan.....	7
„Rozsunięcie cech morfologicznych myszy leśnej <i>Apodemus flavicollis</i> i zaroślowej <i>A. sylvaticus</i> .” - Katarzyna Tomala, Tomasz Wilk.....	12
„Wpływ niskich temperatur na tempo respiracji różnych typów próchnicy” - Beata Klimek, Joanna Kluz.....	18
„Wpływ temperatury na historie życia traszki górskiej ( <i>Triturus alpestris</i> ) pochodzącej z terenów górskich i nizinnych” - Anna Stefanowicz, Ewa Rygielska.....	24
„Wpływ obecności wilków na stopień obciążenia pasożytami u saren” - Zbigniew Boratyński, Łukasz Jasnos .....	32

## ORGANIZATORZY I RECENZENCI

Prof. dr hab. Adam Łomnicki, Zakład Ekologii Populacyjnej INoŚ UJ, [lomnicki@eko.uj.edu.pl](mailto:lomnicki@eko.uj.edu.pl)  
Dr hab. Mariusz Cichoń, Zakład Ekologii Populacyjnej INoŚ UJ, [cichon@eko.uj.edu.pl](mailto:cichon@eko.uj.edu.pl)  
Dr hab. Ryszard Korona, Zakład Mikrobiologii Ekologicznej INoŚ UJ, [korona@eko.uj.edu.pl](mailto:korona@eko.uj.edu.pl)

## UCZESTNICZY KURSU

Zbigniew Boratyński: [macaco@poczta.fm](mailto:macaco@poczta.fm)  
Maciej Dańko.: [macdan@plusnet.pl](mailto:macdan@plusnet.pl)  
Łukasz Jasnos: [jasnosl@poczta.onet.pl](mailto:jasnosl@poczta.onet.pl)  
Beata Klimek: [becik9@o2.pl](mailto:becik9@o2.pl)  
Anna Kluz: [kluz@eko.uj.edu.pl](mailto:kluz@eko.uj.edu.pl)  
Maciej Pabijan.: [pabi@zuk.iz.uj.edu.pl](mailto:pabi@zuk.iz.uj.edu.pl)  
Ewa Rygielska: [eryka@hydro.biol.uw.edu.pl](mailto:eryka@hydro.biol.uw.edu.pl)  
Anna Stefanowicz: [padluszek@o2.pl](mailto:padluszek@o2.pl)  
Katarzyna Tomala: [kasia\\_te@op.pl](mailto:kasia_te@op.pl)  
Tomasz Wilk: [wilk@theta.uoks.uj.edu.pl](mailto:wilk@theta.uoks.uj.edu.pl)

## TEMATY PROPONOWANE PRZEZ UCZESTNIKÓW

1. Ilość złóż skrzeku żab a warunki siedliska
2. Czy śpiew w obecności drapieżnika jest wskaźnikiem jakości samca
3. Czy strategia żerowania owadów zależy od ich ubarwienia
4. Czy istnieje korelacja między datą urodzenia a charakterem
5. Wpływ pH na dekompozycje ściółki z różnych lasów iglastych
6. Wpływ wykształcenia wyższego (ochrona środowiska) na zachowania proekologiczne
7. Wpływ metali ciężkich i pestycydów na ciężar dorosłego chrząszcza
8. Wpływ głębokości i powierzchni zbiornika na zespół zooplanktonu
9. Wpływ ptaków rybożernych na zespół zooplanktonu
10. Wpływ izolacji społecznej na zdolności kooperacyjne u ludzi
11. Strategie strzelania nasionami na odległość u niecierpka
12. Związek między powierzchnią płam na ciele ryb (pyszczaków) a głębokością ich przebywania
13. Różnice w składzie gatunkowym flory bakteryjnej między zwierzętami z natury i niewoli
14. Czy mikrosatelity są neutralne
15. Czy zrzucanie liści na zimę zwiększa szanse kiełkowania własnych nasion
16. Czy środowisko mutagenne wpływa na utrzymywanie genów typu kojarzeniowego H0
17. Wpływ jakości gleby na różnorodność gatunkową roślin naczyniowych w Parkach Narodowych
18. Wpływ wilków na zapasożycenie jeleniowatych
19. Wykorzystanie białek opiekuńczych w liposomowej terapii zaburzeń skórnych
20. Wpływ sieci energetycznych na różnorodność gatunkową zwierząt
21. Dlaczego żyrafy mają różki
22. Konkurencja między dwoma gatunkami wioślarek a ich strategię życiowe
23. Czy heterogeniczność środowiska wpływa na dyspersję zwierząt
24. Koszty i zyski z dominacji u normicy rudej
25. Rozszerzenie cech morfologicznych u dwóch gatunków myszy leśnych żyjących w sympatrii
26. Czy ssaki odrzucają potomstwo o skrajnych cechach fenotypowych
27. Czy dostępność pokarmu i jakość rodziców wpływa na symetrię ciała potomstwa
28. Zależność tempa respiracji ściółki od grubości pokrywy śnieżnej
29. Płciowość u grzybów w zależności od stopnia zmian antropogenicznych w środowisku
30. Zróżnicowanie genetyczne klonów
31. Zróżnicowanie strategii życiowych traszki górskiej ze stanowisk górskich i nizinnych

## KIKSY

- „Co ci odpadło?” [Maciek D] „Geny mi odpadły.” [Ewa]
- „Średnica będzie m<sup>2</sup>.” [Maciek D]
- „Strategia militarna niecierpka” [Mariusz o tytule projektu Asi]
- „Właśnie zauważyłem problem z tymi jajami.” [Maciek P]
- „Chciałbym powiedzieć, że to nie będzie mniej więcej 20°, tylko prawie dokładnie 20°...” [Maciek D]
- „...stężenie 1 ryby na 10 litrów” [Ewa]
- „Mucha mnie zaatakowała !!!” [Beata]
- „Stefa nawet na swojej prezentacji zasypia.” [Mariusz]
- „A będzie interakcja?” [Mariusz] „Nie!” [Ewa] „Nie i odczep się!!!” [Łukasz]
- „Odlów będzie prowadzony przez 2 sąsiadujące ze sobą noce.” [Tomek]
- „Na samym początku nie chodziło o jaja.” [Maciek P]
- „Jeżeli jest ostra zima, to ściółka jest przemarznięta do szpiku kości.” [Stefa]
- „...czynnik zagnieżdżony w wilku.” [Łukasz]
- „Czas coś zjeść.” [Tomek otwierając puszkę piwa]
- „Pojawia się tu i ówdzie fraza ‘informacja ustna od Ewy’. Jest to zapewne ta sama Ewa, która informowała ustnie o jabłkach; powołując się na nią piszemy: ‘E. Ziobro, informacja ustna’ [Rysiek Korona, z recenzji projektu Maćka D i Maćka P]
- „W zasadzie nie wiem, na ile jest to wykonalne, ale można rybę przywiązać na sznurku.” [Maciek D]
- „Becik (Beata) przypomina ściółkę.” [Stefa]
- „Śnieg opadł i nasz reporter widział to na własne oczy.” [radio RMF]
- „No proszę, w dzisiejszych czasach straż pożarna gasi pożary piwem.” [Stefa w knajpie na widok strażaków wchodzących z pustymi transporterami po piwie]
- „...trzy połowy rozwiłitek.” [Kasia]

oraz prof. Łomnicki po recenzjach projektów z tegoż kursu:

- „Odnoszę wrażenie, że na kursie mamy nie doktorantów, lecz laborantów.”

# Wpływ obecności drapieżnika i typu zbiornika na współwystępowanie dwóch gatunków rozwielitki *Daphnia cuculata* i *Daphnia hyalina*

Maciej Dańko  
Maciej Pabijan

## Streszczenie:

Przedstawiony projekt dotyczy wpływu drapieżników i reżimu świetlnego na współwystępowanie dwóch gatunków rozwielitki różniących się rozmiarami ciała. Uważamy, że powyższe czynniki wpływają na stosunek ilościowy obu gatunków. Przewidujemy, iż tylko przypadek, w którym obecny jest drapieżnik i strefa afotyczna pozwala na utrzymanie się obu gatunków jednocześnie. W przeciwnych wypadkach jeden z gatunków zostanie wyeliminowany na skutek konkurencyjnego wyparcia lub wybiórczego drapieżnictwa. Zaprojektowaliśmy eksperyment laboratoryjny, który wyjaśni powyższe zależności.

## 1. Wstęp

Skład gatunkowy organizmów filtrujących jest uwarunkowany środowiskiem biotycznym i abiotycznym. Środowisko abiotyczne może modyfikować relacje między gatunkowe (np. drapieżnictwo i konkurencję).

Z badań eksperymentalnych wiadomo, że duże gatunki rozwielitki w stosunkowo krótkim czasie wypierają gatunki mniejsze. Dzieje się tak dlatego, że aparat filtracyjny dużego gatunku rozwielitki jest sprawniejszy niż małego, co ogranicza dostępne zasoby pokarmowe i prowadzi do konkurencyjnego wyparcia małego gatunku przez duży (Gliwicz za Rygielska, E., informacja ustna).

Innym czynnikiem wpływającym na liczbę gatunków rozwielitek to obecność ryb. Duże osobniki rozwielitek są łatwiej zauważalne, dlatego ryby chętniej wyłapują takie osobniki. Prowadzi to do zwiększenia udziału małych gatunków rozwielitek w zbiorniku, a nawet do zupełnej eliminacji gatunków dużych (Rygielska, E., informacja ustna). Z drugiej strony, w przyrodzie obserwuje się układy mniej lub bardziej stabilne, charakteryzujące się współwystępowaniem gatunków rozwielitek o różnych rozmiarach ciała (Rygielska, E., informacja ustna).

Dotychczasowe eksperymenty brały pod uwagę tylko jeden czynnik (konkurencja lub drapieżnictwo) wpływający na liczbę gatunków rozwielitek. Bardziej rzeczywisty, choć nadal uproszczony, eksperyment dotyczyłby wpływu dwóch czynników jednocześnie. Ponadto, zaobserwowano, że w zbiornikach oligotroficznycy liczba gatunków rozwielitek jest mniejsza niż w zbiornikach eutroficznycy (Rygielska, E., informacja ustna). Strefa afotyczna, która może modyfikować strukturę gatunkową rozwielitek, występuje w jeziorach eutroficznycy, natomiast w jeziorach oligotroficznycy jej brak.

Przypuszczamy, że w zbiornikach eutroficznycy duże gatunki rozwielitek łatwiej mogą ukryć się przed drapieżnikami. Rozwielitki mogą się przemieścić w strefę afotyczną gdzie są trudniej dostrzegalne. W takim przypadku drapieżniki nie są w stanie wyłapać wszystkich osobników dużych gatunków. Tym samym, zmniejszona liczba dużych gatunków rozwielitek pozwoli na utrzymanie się małych gatunków w danym układzie. Zakładamy, że w takich warunkach zarówno małe jak i duże gatunki mogą współwystępować. Za naszą hipotezę uważamy zależność, według której zbiorniki o różnym reżimie świetlnym i o obecności lub braku drapieżnika różnią się składem gatunkowym.

Celem naszej pracy będzie sprawdzenie, czy współwystępowanie dużych jak i małych gatunków jest uzależnione nie tylko od obecności drapieżnika ale również od trofii zbiornika. Zwiększona trofia zbiornika umożliwia współwystępowanie większej liczby gatunków.

## 2. Materiały i metody

Eksperyment zostanie przeprowadzony w specjalnie skonstruowanych zbiornikach, które będą odzwierciedlały warunki panujące w głębokich zbiornikach naturalnych- eutroficznycy i oligotroficznycy. Dobór takich warunków jest uzasadniony obserwacjami terenowymi, gdyż pomiędzy takimi zbiornikami występują wyraźne różnice w liczbie gatunków rozwielitek (informacja ustna od Ewy). Dodatkowo, wprowadzimy czynnik drapieżnictwa.

W pracy będą rozważane cztery możliwe sytuacje: dwa zbiorniki z drapieżnikiem, z gradientem światła lub bez oraz dwa zbiorniki bez drapieżnika, z również z tym samym reżimem światła. W każdym z tych przypadków będziemy szacować proporcje dwóch gatunków rozwielitek różniących się rozmiarami ciała. Cały eksperyment będzie się odbywał w trzech powtórzeniach. Na podstawie wcześniejszych badań wiemy, że mały gatunek rozwielitki *Daphnia cuculata* oraz duży gatunek *Daphnia hyalina* konkurują pomiędzy sobą o zasoby pokarmowe. Te dwa gatunki zostaną wykorzystane w eksperymencie. Drapieżnikiem będzie mała płoć z gatunku *Rutilus Rutilus*.

Do naszych badań zostaną skonstruowane 4 zbiorniki (po dwa na każdy typ reżimu światła), każdy o pojemności 2650 litrów, średnicy 1,3m i głębokości 2 metra. Do każdego zbiornika zostanie wprowadzonych

1500 osobników każdego gatunku rozwielitek (Gliwicz). W zbiornikach utworzy się warunki termiczne dla stratyfikacji i pojawienia się gradientu pokarmu. Warunki takie otrzymania się ogrzewając powierzchnię zbiornika do 20°C (grzałka) i ochładzając jego dno do 4°C (umieszczenie w lodzie). Temperatura 20°C jest temperaturą optymalną dla większości gatunków rozwielitek (Petters i Bernardi). Pokarm dla rozwielitek (glony) będzie uzupełniany codziennie do stężenia 0.2 mg C/litr. (Lampert za Peters i Bernardi). Dolne 3/4 wszystkich zbiorników będzie osłonięte nie przepuszczalnym dla światła materiałem.

Czynnikiem różnicującym dwa badane typy zbiornika, będzie sposób ustawienia źródeł światła, a przez to obecność lub brak strefy afotycznej. Zbiorniki w których symulowane będą warunki oligotroficzne będą posiadały lampy o dużym natężeniu światła skierowane wzdłuż słupa wody, tak aby został on całkowicie oświetlony. Odpowiednie (boczne, poniżej lustra wody) ustawienie oświetlenia w zbiornikach symulujących warunki eutroficzne spowoduje wystąpienie strefy afotycznej. W obu typach zbiornika zostanie wytworzony gradient światła, co zachęci plankton do migracji pionowych. Rozwielitki będą mogły poruszać się w obie strony; ku powierzchni zgodnie z rosnącym gradientem pokarmu lub w kierunku dna aby uciec przed drapieżnikiem.

Drugim czynnikiem różnicującym będzie obecność lub brak drapieżnika. Drapieżnik (3 małe płocie) będzie wprowadzany w specjalnej klatce (aby ułatwić wylawianie i zmniejszyć zerowanie ryb) do zbiorników na 1,5 godziny dziennie. Uniknie się w ten sposób nadmiernego wyjadania rozwielitek. Do każdego zbiornika 3 godziny wcześniej wprowadzimy odpowiednią ilość (informacja ustna Ewa) wody ze zbiornika w którym przebywają płocie aby utrzymać stężenie kairomonów, a więc i ruchy pionowe planktonu (Petters i Bernardi). Pomiarów liczebności będziemy dokonywać w trzech powtórzeniach za pomocą siatki planktonowej o znanej średnicy wlotu. Pozwoli to na oszacowanie zagęszczenia osobników obu gatunków, a przez to określenia ich stosunku liczebności. Pomiarów te będą wykonywane codziennie, aby wychwycić moment, kiedy nastąpi zupełna eliminacja jednego z gatunków co ułatwi późniejszą analizę statystyczną. Eksperyment zakończy się po 70 dniach lub, wtedy kiedy zostanie wyeliminowany jeden z gatunków rozwielitki w którymkolwiek ze zbiorników. Oznacza to, że czas trwania wszystkich przypadków wraz z powtórzeniami będzie jednakowy.

### 3. Analiza statystyczna

Pomiary będą wyrażone jako stosunek *Daphnia cuculata* do *Daphnia hyliana*. Zostanie przeprowadzona dwuczynnikowa analiza wariancji z trzema powtórzeniami. Czynniki będą brak lub obecność drapieżnika oraz brak lub obecność strefy afotycznej. Rozpatrując zgromadzone dane dla 12 pomiarów (4 x 3) od czasu t=1 (pierwszy dzień doświadczenia) do końca doświadczenia będziemy poszukiwać czasu, w którym jeden z gatunków wyginą. Jeśli znajdziemy choć jeden przypadek to przeprowadzimy analizę wariancji tylko dla danych z czasu t-1, w przeciwnym wypadku tylko dla czasu t=70 dni. W ten sposób długość czasu trwania eksperymentu we wszystkich przypadkach i powtórzeniach będzie taka sama.

Za hipotezę zerową przyjmujemy brak różnic w stosunku ilości osobników obu gatunków pomiędzy zbiornikami z drapieżnikiem lub bez drapieżnika i tam, gdzie występuje strefa afotyczna lub jej nie ma. Za hipotezę alternatywną to, że są takie różnice. Rozkłady które otrzymamy przypuszczalnie będą skośne dlatego, że liczebność któregoś z gatunków w danym przypadku będzie malała. Takie dane przed rozpoczęciem analizy będą transformowane.

### 4. Spodziewane wyniki

Wiadomo, że przy braku drapieżnictwa duży gatunek rozwielitki wypiera mały. *D. cuculata* jest gorszym filtratorem, ma generalnie mniejszą rozrodczość i łatwo ulega presji konkurencyjnej *D. hyliana*. W zbiornikach, w których światło dociera do dna, duże gatunki rozwielitki zostają wyjadane przez drapieżniki, gdyż nie mogą uciec w ciemniejsze i mniej dostępne dla żerujących ryb miejsca. Nie wiadomo jednak w jaki sposób ograniczenie możliwości ucieczki planktonu wpływa na stosunek liczby gatunków. Przewidujemy, że nasz eksperyment wyjaśni ten problem. Spodziewamy się, że w zbiornikach bez drapieżnika mniejszy gatunek rozwielitki zostanie wyparty przez większy. W przypadku zbiornika z drapieżnikiem bez strefy afotycznej, ryby w pierwszej kolejności wyjedzą duży gatunek rozwielitki na skutek czego, przeważać będą małe. W zbiorniku z obecną strefą afotyczną ryby będą miały ograniczone możliwości wyjadania osobników dużych, gdyż te będą mogły chować się w nie oświetlonych rejonach zbiornika. Ruchy planktonu w kierunku dna zachęcane będą malejącym wraz z głębokością natężeniem światła. Natomiast gradient pokarmowy malejący wraz z głębokością będzie zachęcał rozwielitki do poruszania się w kierunku powierzchni.

### 5. Kosztorys

4 plastikowe zbiorniki po 2650 litrów	2000zł
4 materiały izolujące od światła	50zł
kostkarka do lodu	7000zł
oświetlenie	350zł

zużycie prądu	1000zł
woda	400zł
hodowla glonów	300zł
hodowla ryb	500zł
koszty sympozjów zagranicznych i krajowych	8000zł
koszty publikacji	1000zł
<b>RAZEM</b>	<b>20600zł</b>

### Literatura i informacje ustne

Peters, R.H, De Bernardi, R. 1987. "Daphnia".  
Rygielska, E. Zakład Hydrobiologii UW.

## RECENZJE

**Adam Łomnicki**

### Recenzja projektu „Wpływ obecności drapieznika i typu zbiornika na współwystępowanie dwóch gatunków rozwielitki *Daphnia cuculata* i *Daphnia hyalina*”

W projekcie razi mieszanie dwóch czynników: trofii zbiornika i reżimu świetlnego. Aczkolwiek w warunkach naturalnych reżim zależy od trofii, to jednak nie są to czynniki tożsame i w pewnych warunkach można ich efekty rozdzielić. Dlatego pisanie o trofii zbiornika w celu pracy (str.2), gdy badamy tylko reżim jest błędne i mylące. Hipoteza (str.2) jest sformułowana zbyt ogólnikowo (zabiegi różnią się składem gatunkowym). Hipotezy można badaniami nie potwierdzić, ale przed rozpoczęciem badań należy ją śmiało sformułować i jasno sprecyzować przewidywania. To śmiałe sformułowanie (koegzystencja dwóch gatunków zależy od możliwości schronienia się przed drapieznikiem) znajduje się w pierwszych zdaniach wstępu i skłania do finansowania tak ciekawego projektu. Ale po to aby stwierdzić ogólnie, że są różnice w składzie gatunkowym przy różnych zabiegach, to finansować nie warto.

Przewidywania wynikające z przedstawionej hipotezy dla 4 różnych kombinacji zabiegów powinny być wyprowadzone z hipotezy i jednoznacznie sformułowane. Nie należy się obawiać jednoznacznych sformułowań, ponieważ celem badań (w przeciwieństwie do laboratoryjnych ćwiczeń), ale obalenie lub przyjęcie hipotezy. Dlatego przy przewidywaniach należy dać przewidywania alternatywne i napisać co z nich wynika dla przedstawionej hipotezy.

Obawiam się, że badania statystyczne zawierają tak zwane pseudoreplikacje. To co autorzy osiągną badając wpływ zabiegów w różnych czasach to tak zwane *repeated measure anova* czyli analiza wariancji bez powtórzeń ale z powtarzanymi pomiarami. Natomiast możliwe wpływy losowe mogą zakłócić uzyskane wyniki pochodząc mogą z różnic między zbiornikami i dlatego moim zdaniem każdą kombinację zabiegów trzeba zrobić w dwóch powtórzeniach (czyli analiza wariancji klasyfikacja podwójna z powtórzeniami i z powtarzanymi pomiarami). Koegzystencje dwóch gatunków można też oceniać wskaźnikiem Shannona. Jeśli jeden z gatunków występuje w proporcji bliskiej zeru to wskaźnik ten jest bardzo niski, a my wiemy że daleko do koegzystencji. Spodziewać się należy rozkładów skośnych lognormalnych nie dlatego, że liczebność gatunku maleje, ale z tego że osobniki rozmnażają się lub giną tak, że ich wzrosty lub spadki zależą od stanów początkowych. W projekcie mowa o transformacji danych, ale nie wiadomo jakiej i jakich danych.

Jeśli robimy jakiś eksperyment nie powinniśmy zmieniać dwóch czynników równocześnie nawet gdy ten drugi wydaje się nie mieć wpływu. Jeśli przy tworzeniu w zbiorniku obszaru ciemnego musimy oświetlać zbiornik z boku, to przy oświetlaniu całego zbiornika też trzeba to robić z boku, bo oświetlenie z góry może dawać jakieś nieznanne nam jeszcze efekty mające wpływ na wynik eksperymentu. Nie jest dla mnie jasne po co woda ma być z góry grzana a z dołu oziębiana. Ja wiem, że tak jest w warunkach naturalnych, ale czy reakcja na światło w obecności drapieznika wymaga także gradientu termicznego? Jeśli wymaga, to trzeba to napisać, a jeśli nie to trzeba zaoszczędzić na prądzie i kostkarce do lodu.

Brakuje numeracji stron projektu. Autorzy nie bardzo radzą sobie z cytowaniem informacji ustnej. Jeśli nie znamy roku wydania pracy Gliwicza, to może zostać przy informacji ustnej Ewy Rygielskiej. Nie pisze się o ilości osobników (str. 4) ale o liczbie osobników.

Adam Łomnicki

**Ryszard Korona**

**Recenzja projektu „Wpływ obecności drapieżnika i typu zbiornika na współwystępowanie dwóch gatunków rozwielitki *Daphnia cuculata* i *Daphnia hyalina*”**

Hipoteza jest ciekawa i proponowane eksperymenty mogą się okazać istotne dla badaczy planktonu. Pewnym zastrzeżeniem co do koncepcji jest przypuszczenie, że drapieżnictwo ryb w zbiornikach naturalnych jest zmienne, a dokładniej mówiąc, może mieć charakter zależny od zagęszczenia: gdy rozwielitek jest wiele to i drapieżniki się zbiegają, gdy rozwielitek mało to i drapieżniki odchodzą, wtedy rozwielitek przybywa. Autorzy zapewne lepiej niż recenzent ocenią czy taka zależność może utrudnić lub nawet uniemożliwić kompletne wyjedzenie rozwielitek.

W kilku miejscach wymiennie mówi się o trofii i o naświetleniu. Eutrofia i oligotrofia może mieć skutek w różnicach naświetlenia, ale tych różnic jest więcej. Trzeba zaznaczyć wyraźnie, że badamy tylko światło.

Pojawia się tu i ówdzie fraza „informacja ustna od Ewy”. Jest to zapewne ta sama Ewa, która informowała ustnie o jabłkach, powołując się na nią piszemy: E. Ziobro, informacja ustna.

Zapis nazwy gatunkowej *Rutilus Rutilus*, dodaje niewątpliwie powagi tej małej rybce, ale może się nie spodobać purystom (ja nim nie jestem).

Może to być nadmierna ostrożność, ale czy ryb nie należałoby wstawiać w momentach losowych a nie cyklicznych, bo to drugie może doprowadzić do interakcji z innymi czynnikami takimi jak fotoperiod, lub z czynnikami endogennymi (endodafnialnymi).

Przez „stosunek ilościowy” autorzy rozumieją zapewne proporcję. Należy wtedy uważać z transformacjami, pomyśleć o angulanej.

Obawiam się, że przerywanie eksperymentu w momencie zaniku jednej linii może być nieprawidłowe. Zwiększamy w ten sposób prawdopodobieństwo uzyskania wyniku istotnego statystycznie. Lepiej byłoby po prostu wykreślić zmiany proporcji w czasie w czterech zabiegach w trzech powtórzeniach. Może różnice będą oczywiste, nie należy się wstydzić wyników mocnych „na oko”, a nie upstrzonych statystyką. Jeśli wyniki nie byłyby tak mocne, to do szczegółowych porównań można by zastosować analizę kowariancji po transformacyjnym wyprostowaniu linii zmian proporcji, jeśli okaże się to potrzebne i możliwe.

Projekt w zasadzie już nadaje się do realizacji. Widać w nim, że korzysta w dużej mierze z dobrych doświadczeń innych badaczy. To oczywiście zaleta, nie wada. Przemyslenia wymaga analiza statystyczna.

**Anna Stefanowicz**

**Recenzja projektu „Wpływ obecności drapieżnika i typu zbiornika na współwystępowanie dwóch gatunków rozwielitki *Daphnia cuculata* i *Daphnia hyalina*”**

1. Eksperyment oparty jest na błędnym założeniu, że w żadnych zbiornikach oligotroficznym nie występuje strefa afotyczna. W rzeczywistości strefa taka występuje w zbiornikach oligotroficznym jeśli są one wystarczająco głębokie (np. w Czarnym Stawie występuje na głębokości poniżej 40 m). W płytkich zbiornikach oligotroficznym strefa afotyczna może rzeczywiście nie występować i tylko tych zbiorników oligotroficznym mogłby dotyczyć eksperyment.
2. Na stronie 2 podano, że oba gatunki *Daphnia* konkurują ze sobą. Należy napisać skąd uzyskano tę informację.
3. Należy wyjaśnić co to są kairomony, bo czytelnik może tego nie wiedzieć.
4. Radziłabym nie stosować skrótów myślowych:
  - a) jeśli ryba jest w klatce to należy napisać w jaki sposób będzie ona żerować, aby czytelnik nie musiał się domyślać, że być może będzie ona łykać rozwielitki przepływające przez klatkę
  - b) domyślam się również, że rozwielitki zostaną odłowione za pomocą siatki planktonowej a następnie policzone. Zdanie: "Pomiarów liczebności będziemy dokonywać (...) za pomocą siatki planktonowej" brzmi nieco dziwnie



5. Sformułowanie: ..."aparatus filtracyjny dużego gatunku rozwielitki jest sprawniejszy niż małego, co ogranicza dostępne zasoby pokarmowe"...brzmi dziwnie i sugeruje, że wcale nie jest dobrze być dużym gatunkiem rozwielitki
6. Jak już decydujemy się pisać "metry" to się tego trzymamy, a nie piszemy raz "metry" a raz "m".
6. Numerację stron również należy zrobić na komputerze, a nie długopisem.
7. Należy stosować jedną konwencję podawania źródeł, np. Rygielska, E., informacja ustna, a nie pisać "informacja ustna Ewa" lub też "informacja ustna od Ewy". Strasznie mnie to rozbawiło ;) Należy też napisać o jaką Ewę chodzi ;) ;)
8. Przydałoby się również przeczytać tekst projektu powoli i uważnie, poprawić błędy, literówki i dziwnie brzmiące zdania.
9. Kto to jest Gliwicz? ;) To enigmatyczne nazwisko pojawia się w tekście, a nie ma ani słowa wyjaśnienia co to za jeden

## OSTATECZNA WERSJA PROJEKTU

### **Wpływ obecności drapieżnika i typu zbiornika na współwystępowanie dwóch gatunków rozwielitki *Daphnia cuculata* i *Daphnia hyalina***

**Maciej Dańko  
Maciej Pabijan**

#### **Streszczenie:**

Przedstawiony projekt dotyczy wpływu drapieżników i reżimu świetlnego na współwystępowanie dwóch gatunków rozwielitki różniących się rozmiarami ciała. Uważamy, że powyższe czynniki wpływają na stosunek ilościowy obu gatunków. Przewidujemy, iż tylko przypadek, w którym obecny jest drapieżnik i strefa afotyczna pozwala na utrzymanie się obu gatunków jednocześnie. W przeciwnych wypadkach jeden z gatunków zostanie wyeliminowany na skutek konkurencyjnego wyparcia lub wybiórczego drapieżnictwa. Zaprojektowaliśmy eksperyment laboratoryjny, który wyjaśni powyższe zależności.

#### **1. Wstęp**

Skład gatunkowy organizmów filtrujących jest uwarunkowany środowiskiem biotycznym i abiotycznym. Środowisko abiotyczne może modyfikować relacje międzygatunkowe (np. drapieżnictwo i konkurencję).

Z badań eksperymentalnych wiadomo, że duże gatunki rozwielitki w stosunkowo krótkim czasie wypierają gatunki mniejsze. Dzieje się tak dlatego, że aparat filtracyjny dużego gatunku rozwielitki jest sprawniejszy niż małego, co ogranicza dostępne zasoby pokarmowe i prowadzi do konkurencyjnego wyparcia małego gatunku przez dużego (Gliwicz za Rygielską, E., informacja ustna).

Innym czynnikiem wpływającym na liczbę gatunków rozwielitek to obecność ryb. Duże osobniki rozwielitek są łatwiej zauważalne, dlatego ryby chętniej wyłapują takie osobniki. Prowadzi to do zwiększenia udziału małych gatunków rozwielitek w zbiorniku, a nawet do zupełnej eliminacji gatunków dużych (Rygielska, E., informacja ustna). Z drugiej strony, w przyrodzie obserwuje się układy mniej lub bardziej stabilne, charakteryzujące się współwystępowaniem gatunków rozwielitek o różnych rozmiarach ciała (Rygielska, E., informacja ustna).

Dotychczasowe eksperymenty brały pod uwagę tylko jeden czynnik (konkurencja lub drapieżnictwo) wpływający na liczbę gatunków rozwielitek. Bardziej rzeczywisty, choć nadal uproszczony, eksperyment dotyczyłby wpływu dwóch czynników jednocześnie. Ponadto, zaobserwowano, że w zbiornikach oligotroficznych liczba gatunków rozwielitek jest mniejsza niż w zbiornikach eutroficznych (Rygielska, E., informacja ustna). Strefa afotyczna, która może modyfikować strukturę gatunkową rozwielitek, występuje w jeziorach eutroficznych, natomiast w jeziorach oligotroficznych jej brak.

Przypuszczamy, że w zbiornikach eutroficznych duże gatunki rozwielitek łatwiej mogą ukryć się przed drapieżnikami. Rozwielitki mogą się przemieścić w strefę afotyczną gdzie są trudniej dostrzegalne. W takim przypadku drapieżniki nie są w stanie wyłapać wszystkich osobników dużych gatunków. Tym samym, zmniejszona liczba dużych gatunków rozwielitek pozwoli na utrzymanie się małych gatunków w danym układzie. Zakładamy, że w takich warunkach zarówno małe jak i duże gatunki mogą współwystępować. Za naszą hipotezę uważamy zależność, według której zbiorniki o różnym reżimie świetlnym i o obecności lub braku drapieżnika różnią się składem gatunkowym.

Celem naszej pracy będzie sprawdzenie, czy współwystępowanie dużych jak i małych gatunków jest uzależnione nie tylko od obecności drapieżnika ale również od trofii zbiornika. Zwiększona trofia zbiornika umożliwi współwystępowanie większej liczby gatunków.

## 2. Materiały i metody

Eksperyment zostanie przeprowadzony w specjalnie skonstruowanych zbiornikach, które będą odzwierciedlały warunki panujące w głębokich zbiornikach naturalnych- eutroficznych i oligotroficznych. Dobór takich warunków jest uzasadniony obserwacjami terenowymi, gdyż pomiędzy takimi zbiornikami występują wyraźne różnice w liczbie gatunków rozwielitek (informacja ustna od Ewy). Dodatkowo, wprowadzimy czynnik drapieżnictwa.

W pracy będą rozważane cztery możliwe sytuacje: dwa zbiorniki z drapieżnikiem, z gradientem światła lub bez oraz dwa zbiorniki bez drapieżnika, z również z tym samym reżimem światła. W każdym z tych przypadków będziemy szacować proporcje dwóch gatunków rozwielitek różniących się rozmiarami ciała. Cały eksperyment będzie się odbywał w trzech powtórzeniach. Na podstawie wcześniejszych badań wiemy, że mały gatunek rozwielitki *Daphnia cuculata* oraz duży gatunek *Daphnia hyalina* konkurują pomiędzy sobą o zasoby pokarmowe. Te dwa gatunki zostaną wykorzystane w eksperymencie. Drapieżnikiem będzie mała płoć z gatunku *Rutilus Rutilus*.

Do naszych badań zostaną skonstruowane 4 zbiorniki (po dwa na każdy typ reżimu światła), każdy o pojemności 2650 litrów, średnicy 1,3m i głębokości 2 metra. Do każdego zbiornika zostanie wprowadzonych 1500 osobników każdego gatunku rozwielitek (Gliwicz). W zbiornikach utworzy się warunki termiczne dla stratyfikacji i pojawienia się gradientu pokarmu. Warunki takie otrzymana się ogrzewając powierzchnię zbiornika do 20°C (grzałka) i ochładzając jego dno do 4°C (umieszczenie w lodzie). Temperatura 20°C jest temperaturą optymalną dla większości gatunków rozwielitek (Petters i Bernardi). Pokarm dla rozwielitek (glony) będzie uzupełniany codziennie do stężenia 0.2 mg C/litr. (Lampert za Peters i Bernardi). Dolne 3/4 wszystkich zbiorników będzie osłonięte nie przepuszczalnym dla światła materiałem.

Czynnikiem różnicującym dwa badane typy zbiornika, będzie sposób ustawienia źródeł światła, a przez to obecność lub brak strefy afotycznej. Zbiorniki w których symulowane będą warunki oligotroficzne będą posiadały lampy o dużym natężeniu światła skierowane wzdłuż słupa wody, tak aby został on całkowicie oświetlony. Odpowiednie (boczne, poniżej lustra wody) ustawienie oświetlenia w zbiornikach symulujących warunki eutroficzne spowoduje wystąpienie strefy afotycznej. W obu typach zbiornika zostanie wytworzony gradient światła, co zachęci plankton do migracji pionowych. Rozwielitki będą mogły poruszać się w obie strony; ku powierzchni zgodnie z rosnącym gradientem pokarmu lub w kierunku dna aby uciec przed drapieżnikiem.

Drugim czynnikiem różnicującym będzie obecność lub brak drapieżnika. Drapieżnik (3 małe płocie) będzie wprowadzany w specjalnej klatce (aby ułatwić wylawianie i zmniejszyć żerowanie ryb) do zbiorników na 1,5 godziny dziennie. Uniknie się w ten sposób nadmiernego wyjadania rozwielitek. Do każdego zbiornika 3 godziny wcześniej wprowadzimy odpowiednią ilość (informacja ustna Ewa) wody ze zbiornika w którym przebywają płocie aby utrzymać stężenie kairomonów, a więc i ruchy pionowe planktonu (Petters i Bernardi). Pomiarów liczebności będziemy dokonywać w trzech powtórzeniach za pomocą siatki planktonowej o znanej średnicy wlotu. Pozwoli to na oszacowanie zagęszczenia osobników obu gatunków, a przez to określenia ich stosunku liczebności. Pomiaru te będą wykonywane codziennie, aby wychwycić moment, kiedy nastąpi zupełna eliminacja jednego z gatunków co ułatwi późniejszą analizę statystyczną. Eksperyment zakończy się po 70 dniach lub, wtedy kiedy zostanie wyeliminowany jeden z gatunków rozwielitki w którymkolwiek ze zbiorników. Oznacza to, że czas trwania wszystkich przypadków wraz z powtórzeniami będzie jednakowy.

## 3. Analiza statystyczna

Pomiary będą wyrażone jako stosunek *Daphnia cuculata* do *Daphnia hyalina*. Zostanie przeprowadzona dwuczynnikowa analiza wariancji z trzema powtórzeniami. Czynnikiem będą brak lub obecność drapieżnika oraz brak lub obecność strefy afotycznej. Rozpatrując zgromadzone dane dla 12 pomiarów (4 x 3) od czasu t=1 (pierwszy dzień doświadczenia) do końca doświadczenia będziemy poszukiwać czasu, w którym jeden z gatunków wyginą. Jeśli znajdziemy choć jeden przypadek to przeprowadzimy analizę wariancji tylko dla danych z czasu t-1, w przeciwnym wypadku tylko dla czasu t=70 dni. W ten sposób długość czasu trwania eksperymentu we wszystkich przypadkach i powtórzeniach będzie taka sama.

Za hipotezę zerową przyjmujemy brak różnic w stosunku ilości osobników obu gatunków pomiędzy zbiornikami z drapieżnikiem lub bez drapieżnika i tam, gdzie występuje strefa afotyczna lub jej nie ma. Za hipotezę alternatywną to, że są takie różnice. Rozkłady które otrzymamy przypuszczalnie będą skośne dlatego, że liczebność któregoś z gatunków w danym przypadku będzie malała. Takie dane przed rozpoczęciem analizy będą transformowane.

#### 4. Spodziewane wyniki

Wiadomo, że przy braku drapieźnictwa duży gatunek rozwielitki wypiera mały. *D. cuculata* jest gorszym filtratorem, ma generalnie mniejszą rozrodczość i łatwo ulega presji konkurencyjnej *D. hyliana*. W zbiornikach, w których światło dociera do dna, duże gatunki rozwielitki zostają wyjadane przez drapieźniki, gdyż nie mogą uciec w ciemniejsze i mniej dostępne dla żerujących ryb miejsca. Nie wiadomo jednak w jaki sposób ograniczenie możliwości ucieczki planktonu wpływa na stosunek liczby gatunków. Przewidujemy, że nasz eksperyment wyjaśni ten problem. Spodziewamy się, że w zbiornikach bez drapieźnika mniejszy gatunek rozwielitki zostanie wyparty przez większy. W przypadku zbiornika z drapieźnikiem bez strefy afotycznej, ryby w pierwszej kolejności wyjedzą duży gatunek rozwielitki na skutek czego, przeważać będą małe. W zbiorniku z obecną strefą afotyczną ryby będą miały ograniczone możliwości wyjadania osobników dużych, gdyż te będą mogły chować się w nie oświetlonych rejonach zbiornika. Ruchy planktonu w kierunku dna zachęcane będą malejącym wraz z głębokością natężeniem światła. Natomiast gradient pokarmowy malejący wraz z głębokością będzie zachęcał rozwielitki do poruszania się w kierunku powierzchni.

#### 5. Kosztorys

4 plastikowe zbiorniki po 2650 litrów	2000zł	
4 materiały izolujące od światła	50zł	
kostkarka do lodu		7000zł
oświetlenie		350zł
zużycie prądu		1000zł
woda		400zł
hodowla glonów	300zł	
hodowla ryb		500zł
koszty sympozjów zagranicznych i krajowych	8000zł	
koszty publikacji	1000zł	
<b>RAZEM</b>		<b>20600zł</b>

#### Literatura i informacje ustne

Peters, R.H, De Bernardi, R. 1987. "*Daphnia*".  
Rygielska, E. Zakład Hydrobiologii UW.

# Rozsunięcie cech morfologicznych myszy leśnej *Apodemus flavicollis* i zaroślowej *A. sylvaticus*.

Katarzyna Tomala  
Tomasz Wilk

## 1. Streszczenie.

Mysz leśna i zaroślowa na obszarze allopatrycznego występowania (południowa Europa) nie różnią się rozmiarami ciała, natomiast w centralnej Europie, gdzie występują sympatrycznie obserwowane jest rozsunięcie cech morfologicznych tych gatunków. Prawdopodobnie gatunki te na tym obszarze różnią się też preferencjami siedliskowymi.

Nasze badania mają na celu sprawdzenie, czy różnice morfologiczne powstały na drodze konkurencyjnego rozszczepienia cech. Sprawdzone zostaną także preferencje siedliskowe tych gatunków. Wykażemy, czy zaobserwowane różnice w wybiórczości siedliskowej są wynikiem istniejącej aktualnie konkurencji.

## 2. Wstęp.

Mysz zaroślowa i leśna to gatunki szeroko rozprzestrzenione w Europie. Na południowych krańcach kontynentu są one rozmieszczone allopatrycznie (mysz zaroślowa na zachodzie, mysz leśna na wschodzie). W Europie Centralnej gatunki te współwystępują.

Na obszarach, sympatrycznego występowania wykazano istnienie różnic w wymiarach ciała między tymi gatunkami (mysz leśna jest większa). Różnic tych nie stwierdzono na południowych krańcach zasięgu. Postuluje się, że rozsunięciu cech morfologicznych towarzyszy także zróżnicowanie w wyborze siedliska: mysz leśna preferuje wnętrza drzewostanów, natomiast mysz zaroślowa jest spotykana na obrzeżach drzewostanów i terenach otwartych.

Różnice morfologiczne i behawioralne między podobnymi gatunkami występującymi sympatrycznie mogą wzmacniać barierę rozrodczą, utrudniając hybrydyzację. Wykazano jednak, że nie jest możliwe krzyżowanie osobników badanych gatunków pochodzących z populacji allopatrycznych. Unikanie hybrydyzacji nie jest więc przyczyną rozsunięcia cech.

Inną przyczyną obserwowanych różnic może być unikanie istniejącej pomiędzy tymi gatunkami konkurencji. Różnice te jednak nie byłyby zdeterminowane genetycznie i po usunięciu konkurencyjnego gatunku ze środowiska zanikałyby. W takim przypadku wskazywałoby to plastyczność fenotypową osobników z badanych populacji.

Możliwe jest także, że zmiany w zachowaniu oraz wielkości ciała powstały w wyniku konkurencyjnego rozszczepienia cech. Mielibyśmy wtedy do czynienia z ich dziedziczeniem.

## 3. Materiały i metody

Z obszaru sympatrycznego występowania (Puszcza Niepołomska) zostanie odłowionych po 100 osobników obu gatunków myszy. Odłów przeprowadzony będzie w kilku, oddalonych od siebie stanowiskach, aby ograniczyć wpływ miejsca odłowu na rozpatrywane cechy.

Odłowione osobniki będą hodowane w laboratorium. Każdy osobnik będzie umieszczony w osobnej klatce. Myszy zostaną rozmnożone, a ich potomstwo będzie wykorzystane w eksperymencie.

Cały eksperyment jest przewidziany na trzy lata. W każdym roku zostaną przeprowadzone dwa powtórzenia. Myszy do każdego powtórzenia będą na nowo odławiane z natury, aby osobniki użyte w kolejnych powtórzeniach nie różniły się długością przebywania w niewoli.

### a. Opis eksperymentu

W południowej części Puszczy Niepołomskiej zostaną założone trzy poletka eksperymentalne o podobnej strukturze siedliskowej, każde o powierzchni 2 ha (100x200 m). Zostaną one usytuowane na skraju lasu, tak aby zajmował on 2/3 powierzchni. Zakładamy tutaj, że wnętrza drzewostanu Poletka zostaną ogrodzone siatką, a następnie zostaną z nich odłowione i usunięte wszystkie gryzonie.

Myszy uzyskane w hodowli zostaną wypuszczone na poletka według następującego schematu:

- poletko Z: 20 samców i 30 samic myszy zaroślowej
- poletko L: 20 samców i 30 samic myszy leśnej
- poletko Z/L: po 10 samców i 15 samic obu gatunków myszy

W kolejnych powtórzeniach będziemy zmieniać przydział grup eksperymentalnych do poszczególnych poletek w sposób losowy.

Po trzech miesiącach myszy zostaną ponownie odłowione z poletek. W każdym poletku zostanie umieszczonych 100 pułapek równych odległościach od siebie. Pułapki w zależności od usytuowania zostaną przydzielone do jednej z dwóch kategorii: leśna (wnętrze lasu) lub łąkowa (skraj lasu i łąka). Odłów prowadzony będzie przez 2 noce, każda pułapka będzie sprawdzana co 2 godziny. Następnie zmierzmy długość ciała.

#### b. Opracowanie wyników

Preferencje siedliskowe obu gatunków myszy zostaną określone na poletku Z/L. W tym celu użyty zostanie test chi kwadrat. Zakładamy, że jeśli nie ma różnic w preferencjach, to oba gatunki będą losowo rozmieszczone na poletku. Oczekujemy, że w tym wypadku połowa wszystkich osobników jednego gatunku zostanie odłowiona w pułapki jednej kategorii.

Porównanie preferencji siedliskowych myszy występujących w obecności lub braku drugiego gatunku (poletko Z i L). Analiza dla myszy leśnej zostanie przeprowadzona w następujący sposób:

- obliczymy proporcje osobników myszy leśnej złapanych w pułapki „leśne” do wszystkich odłowionych osobników tego gatunku, osobno dla poletek L i Z/L
- proporcje otrzymane z wszystkich powtórzeń eksperymentu porównamy między poletkami testem Manna-Whitney’a.

Podobną analizę przeprowadzimy dla myszy zaroślowej biorąc pod uwagę poletka Z i Z/L.

Aby porównać długość ciała osobników myszy leśnej z poletka L i Z/L przeprowadzimy dwukierunkową analizę wariancji, gdzie pierwszym czynnikiem będzie rodzaj poletka, a drugim kolejne powtórzenia eksperymentu. Analogiczną analizę przeprowadzimy dla myszy zaroślowej, porównując osobniki z poletek Z i Z/L.

#### 4. Przewidywane wyniki.

- spodziewamy się zaobserwować różnice w preferencjach siedliskowych między badanymi gatunkami w poletku Z/L
- spodziewamy się, że różnice w preferencjach siedliskowych między dwoma gatunkami myszy trzymany na poletkach jednogatunkowych (Z i L) będą mniejsze niż te uzyskane z poletka dwugatunkowego (Z/L). Taki wynik świadczyłby, że wybiórczość siedliskowa nie jest dziedziczna. Może to wskazywać na aktualnie istniejącą konkurencję między tymi gatunkami.
- spodziewamy się, że różnice długości ciała myszy zaroślowej i leśnej będą się utrzymywać pomimo nieobecności drugiego gatunku. Wskazywałoby to na konkurencyjne rozszczepienie cech.

Takie przewidywania zgodne byłyby z założeniem, że cechy morfologiczne są odziedziczalne w większym stopniu, niż cechy historii życiowych.

## RECENZJE

**Adam Łomnicki**

**Recenzja projektu „Rozsunięcie cech morfologicznych myszy leśnej *Apodemus flavicollis* i zaroślowej *A.sylvaticus*”**

Autorzy powinni zdecydować się na jedną nazwę, a moim zdaniem przyjęte w polskiej literaturze jest konkurencyjne rozszczepienie, a nie rozsunięcie. W projekcie widzę tendencje to stosowania zasady: „jeśli masz wątpliwości, to mamroc”. W projektach badawczych nie należy się bać jasnych i kategoriycznych stwierdzeń w hipotezach, a także należy jasno określić co już wiemy o co chcemy w wyniku badań ustalić. Autorzy powinni jednoznacznie we wstępie stwierdzić że takie rozszczepienie cech morfologicznych i behawioralnych u tego gatunku istnieje i to nie jest obiektem naszych badań. Z projektu wydaje się wynikać (aczkolwiek nie stwierdzono tego wyraźnie jako dwóch alternatywnych hipotez), że chodzi o ustalenie czy podłożem tego rozszczepienia jest plastyczność fenotypowa czy różnice genetyczne. A może warto rozważyć trzecią hipotezę, gdy te dwie pierwsze hipotezy nie wykluczają się. Zupełnie nie rozumiem w jaki sposób unikanie hybrydyzacji jest przyczyną rozsunięcia się cech innych niż te powstałe drogą doboru płciowego i po co się tym zajmować jeśli badania nie przewidują sprawdzenia tego. Ogólnie fragment wstępu ze strony 2 jest dla mnie zupełnie niezrozumiałym mamrotaniem. Dlaczego podstawą konkurencyjnego rozszczepienia nie może być plastyczność fenotypowa? Może ja to źle zrozumiałem i chodzi o ustalenie (Cel badań str.2) czy powodem rozszczepienia jest konkurencja. Ale wtedy trzeba sformułować jasno hipotezę alternatywną. Tu naprawdę nie wiem czego jesteśmy pewni, a co chcemy ustalić.

Przy opisie metod brakuje mi dyskusji ilu pokoleń należy się spodziewać w ciągu trzech miesięcy i czy powstałe lub znikające różnice morfologiczne i behawioralne będzie można jednoznacznie przydzielić do plastyczności fenotypowej lub do różnic genetycznych. Bo w ciągu kilku pokoleń spodziewać się można doboru prowadzącego do zaniku lub rozszczepienia cech.

Przewidywanych wyników nie należy się spodziewać (str 4), ale należy je przewidywać z przedstawionej hipotezy i z hipotezy alternatywnej. Uczony nie powinien przywiązywać się do jednej hipotezy, ale zawsze tworzyć hipotezę alternatywną i tak ustawić badania aby jedną z nich obalić. Nie jest dla mnie sprawą jasną czy powtórzenie jest czynnikiem czy powtarzanymi pomiarami. Jeśli nie zupełnie niezależne to są powtarzanymi pomiarami.

Dlaczego nie podano w ilu miejscach Puszczy Niepołomickiej będą odławiane myszy? Co to znaczy ograniczyć wpływa miejsca odłowu? (str.2). Brak kosztorysu, a te zagrody myszozszczelne w Puszczy muszą być bardzo kosztowna.

Adam Łomnicki

**Zbyszek Boratyński**

**Recenzja projektu „Rozsunięcie cech morfologicznych myszy leśnej *Apodemus flavicollis* i zaroślowej *A.sylvaticus*”**

**Cel projektu:** Autorzy chcą sprawdzić czy różnice morfologiczne powstały w wyniku działania konkurencji, czego efektem może być genetyczne utrwalenie tych różnic, czyli konkurencyjne rozszczepienie cech. Także, bezpośrednim celem będzie oszacowanie konkurencji oraz sprawdzenie genetycznego komponentu zmienności cech i na tej podstawie wnioskować się będzie o możliwych mechanizmach ewolucyjnych. Wydaje mi się, że tak należało sformułować cel badań. Być może „...sprawdzenie, czy różnice morfologiczne powstały na drodze konkurencyjnego rozszczepienia cech.” jest zbyt dużym skrótem myślowym.

**Materiały i metody:** Niejasny jest dla recenzenta sposób pobierania zwierząt do eksperymentu. Z ilu populacji, po ile osobników, czy gatunki lokalnie współwystępują (należy założyć, że tak), o jakiej porze roku (może się zdarzyć, że np.: wczesną wiosną nie będzie co łapać). Długość ciała jest najważniejszą cechą mierzoną, ale autorzy nie podali, w jaki sposób dokładnie to robią. Nie wiadomo ile planuje się wyhodować zwierząt, co jest istotne dla powodzenia projektu. Nie za bardzo rozumiem, po co porównywać dojrzałe osobniki złowione z wyhodowanym pokoleniem F2. Nie prościej porównać F1 z F2 w określonym wieku (np.: 6 tyg.). Pozwoli to wyeliminować błąd wynikający z różnicy w szybkości dojrzewania osobników z hodowli i populacji naturalnych. Brak procedur jak będą zwierzęta hodowane. Nie jest jasne czy hodowane będą zwierzęta tylko „świeżo” złapane czy po powtórnych odłowieniu z powierzchni badawczej, czy też obie grupy. Tu również trzeba by po powtórnych odłowieniu z powierzchni eksperymentalnej wyhodować F1. Da to nam dokładniejsze wyniki pomiaru długości w określonym wieku i powinny wyjść różnice genetyczne, (jeśli są) pomiędzy populacjami eksperymentalnymi (oczywiście po tym jak wyjdą jakieś różnice pomiędzy odłowionymi osobnikami z powierzchni eksperymentalnych). Nie wiem, w jaki sposób da się stwierdzić, że: „...różnice w długości ciała nie są spowodowane wyborem różnych siedlisk” porównując zwierzęta „świeżo” odłowione z ich pokoleniem F2. Chyba trzeba to zrobić porównując zwierzęta z hodowli półotwartych i ich następne pokolenia.

**Przewidywane wyniki:** „różnice w długości ciała myszy zaroślowej i leśnej będą się utrzymywały pomimo nieobecności drugiego gatunku”, co będzie świadczyć o odziedziczalności tej cechy i może sugerować, iż wyewoluowała ona w wyniku konkurencyjnego rozszczepienia cech. Znow skróć myślowy: „Wskazywałoby to na konkurencyjne rozszczepienie cech”. A co jeśli nie uda się wykazać konkurencji a wielkość ciała się zmieni u zwierząt z populacji „allopatrycznej” a zmiana ta nie będzie odziedziczana?

**Wnisek:**

Należy popracować jeszcze trochę nad procedurami tego eksperymentu. W obecnej formie nie są one do końca jasne i dlatego niestety należałoby odrzucić wniosek o finansowanie. Zwłaszcza, że nie wiadomo o ile pieniędzy autorzy się starają.

**Anna Stefanowicz**

**Recenzja projektu „Rozsunięcie cech morfologicznych myszy leśnej *Apodemus flavicollis* i zaroślowej *A.sylvaticus*”**

1. Wydaje mi się, że trzeba napisać w jaki sposób odławiano myszy, jak były rozmieszczone pułapki i wielkość obszaru, z którego odławiano.
2. Nie rozumiem co oznaczają warunki standardowe hodowania myszy, też trzeba to napisać. Metody powinny być tak opisane, aby na podstawie tego opisu inna osoba była w stanie przeprowadzić eksperyment w ten sam sposób, z zapewnieniem takich samych warunków.
3. Należałoby podać literaturę źródłową, z której korzystano przy pisaniu projektu.

4. Sugeruję uważne przeczytanie tekstu i poprawienie drobnych błędów. Nie mam więcej zastrzeżeń do projektu, doświadczenie wydaje się poprawnie zaplanowane i umożliwia zweryfikowanie przedstawionych hipotez.

**Maciej Dańko**

**Recenzja projektu „Rozsunięcie cech morfologicznych myszy leśnej *Apodemus flavicollis* i zaroślowej *A. sylvaticus*”**

Recenzowany projekt dotyczy podłoża (konkurencyjne rozszczepienie cech lub plastyczność fenotypowa) rozsunięcia cech morfologicznych i preferencji siedliskowych u myszy leśnej i zaroślowej. Tematyka pracy jest ciekawa, ale zastanawiam się czy takie, lub podobne badania nie były już kiedyś przeprowadzone. W projekcie brakuje podkreślenia nowatorstwa badań. Mam ponadto wrażenie, że w streszczeniu brakuje zdania, które mówiło by dlaczego te badania są ważne i warto wykonać. Wstęp pracy jest zwięzły i logiczny, a cele badań jasno przedstawione. Plan badań nie został jednak dobrze przemyślany i ma pewne uchybienia. Na przykład nie jest wyjaśnione skąd wzięły się takie, a nie inne proporcje samców i samic w poszczególnych poletkach. Zastanawia mnie też czy myszy nie będą przechodziły pod siatką. Siatka taka musiała by zostać dodatkowo uszczelniona do odpowiedniej głębokości w ziemi. Zakładam jednak, że ogrodzenie poletek w ten sposób może być bardzo kosztowne i czasochłonne. Problem ten więc, należy jeszcze dokładnie przemyśleć. W projekcie trzeba się jeszcze zastanowić czy nie będą obecne jakieś inne cechy wpływające na preferencje siedliskowe danego gatunku myszy. Mało jest powiedziane pozatym o procedurze hodowlanej odłowionych myszy.

**Wnioski:**

Projekt jest dobry. Uważam jednak, że autorzy musieliby jeszcze nad nim trochę popracować. Myślę, że po rozwiązaniu wszystkich problemów metodologicznych miał by on szansę być finansowanym z funduszu KBN.

## OSTATECZNA WERSJA PROJEKTU

### **Rozsunięcie cech morfologicznych myszy leśnej *Apodemus flavicollis* i zaroślowej *A. sylvaticus*.**

**Katarzyna Tomala**

**Tomasz Wilk**

**Streszczenie.**

Mysz leśna i zaroślowa na obszarze allopatrycznego występowania (południowa Europa) nie różnią się rozmiarami ciała, natomiast w centralnej Europie, gdzie występują sympatrycznie, obserwowane jest rozsunięcie cech morfologicznych tych gatunków. Prawdopodobnie gatunki te na tym obszarze różnią się też preferencjami siedliskowymi.

Chcemy zbadać, czy obserwowane rozsunięcie cech morfologicznych i preferencji siedliskowych wiąże się z plastycznością fenotypową, czy też powstało na skutek konkurencyjnego rozszczepienia cech pomiędzy dwoma gatunkami. Można to stwierdzić usuwając ze środowiska jeden z gatunków. Jeśli mamy do czynienia z plastycznością fenotypową nastąpi konkurencyjne uwolnienie analizowanej cechy – różnice w wielkości ciała między gatunkami zmniejszą się, a oba gatunki myszy będą preferować te same siedliska. Natomiast jeśli obserwowane różnice powstały w wyniku konkurencyjnego rozszczepienia cech (ewolucja w warunkach długotrwałej konkurencji doprowadziła do trwałego, dziedzicznego rozsunięcia cech) to usunięcie drugiego gatunku nie spowoduje zaniku różnic.

**Wstęp.**

Mysz zaroślowa i leśna to gatunki szeroko rozprzestrzenione w Europie. Na południowych krańcach kontynentu są one rozmieszczone allopatrycznie (mysz zaroślowa na zachodzie, mysz leśna na wschodzie). W Europie Centralnej gatunki te współwystępują.

Na obszarach, sympatrycznego występowania wykazano istnienie różnic w wymiarach ciała między tymi gatunkami (mysz leśna jest większa). Różnic tych nie stwierdzono na południowych krańcach zasięgu. Postuluje się, że rozsunięciu cech morfologicznych towarzyszy także zróżnicowanie w wyborze siedliska: mysz leśna

preferuje wnętrza drzewostanów, natomiast mysz zaroślowa jest spotykana na obrzeżach drzewostanów i terenach otwartych.

Różnice morfologiczne i behawioralne między podobnymi gatunkami występującymi sympatrycznie mogą wzmacniać barierę rozrodczą, utrudniając hybrydyzację. Wykazano jednak, że nie jest możliwe krzyżowanie osobników badanych gatunków pochodzących z populacji allopatrycznych. Unikanie hybrydyzacji nie jest więc przyczyną rozsunięcia cech w analizowanym przykładzie.

Inną przyczyną obserwowanych różnic może być unikanie istniejącej pomiędzy tymi gatunkami konkurencji. Różnice te mogą nie być zdeterminowane genetycznie i po usunięciu konkurencyjnego gatunku ze środowiska zanikałyby. W takim przypadku wskazywałoby to plastyczność fenotypową osobników z badanych populacji.

Możliwe jest także, że zmiany w zachowaniu oraz wielkości ciała powstały w wyniku konkurencyjnego rozszczepienia cech. Mielibyśmy wtedy do czynienia z ich dziedziczeniem.

### **Cel badań**

Nasze badania mają na celu sprawdzenie, czy różnice morfologiczne powstały na drodze konkurencyjnego rozszczepienia cech. Sprawdzone zostaną także preferencje siedliskowe tych gatunków. Wykażemy, czy zaobserwowane różnice w wybiórczości siedliskowej są wynikiem istniejącej aktualnie konkurencji.

### **Materiały i metody**

Z obszaru sympatrycznego występowania (Puszcza Niepołomska) zostanie odłowionych po 100 osobników obu gatunków myszy. Odłów przeprowadzony będzie w kilku, oddalonych od siebie stanowiskach, aby ograniczyć wpływ miejsca odłowu na rozpatrywane cechy.

Zostanie zmierzona długość ciała dojrzałych, odłowionych osobników. Następnie myszy będą hodowane w laboratorium. Każdy osobnik będzie umieszczony w osobnej klatce, w standartowych warunkach. Myszy zostaną rozmnożone, a ich potomstwo (pokolenie F1) będzie wykorzystane w dalszych etapach eksperymentu: część osobników zostanie umieszczona na poletkach eksperymentalnych, pozostałe natomiast zostaną wykorzystane do dalszego rozrodu, tak aby otrzymać pokolenie F2. Po osiągnięciu dojrzałości przez osobniki tego pokolenia, zostanie przeprowadzony pomiar ich wielkości.

Część terenowa eksperymentu jest przewidziana na trzy lata. W każdym roku zostaną przeprowadzone dwa powtórzenia opisanych poniżej badań. Myszy do każdego powtórzenia będą na nowo odławiane z natury, aby osobniki użyte w kolejnych powtórzeniach nie różniły się długością przebywania w niewoli.

### **Opis eksperymentu**

W południowej części Puszczy Niepołomskiej zostaną założone trzy poletka eksperymentalne o podobnej strukturze siedliskowej, każde o powierzchni 2 ha (100x200 m). Zostaną one usytuowane na skraju lasu, tak aby zajmował on 1/2 powierzchni. Poletka zostaną ogrodzone siatką, a następnie zostaną z nich odłowione i usunięte wszystkie gryzonie. Pasek gładkiego plastiku w środkowej części siatki uniemożliwi przedostawanie się gryzoni przez ogrodzenie. Myszy uzyskane w hodowli laboratoryjnej (pokolenie F1) zostaną wypuszczone na poletka według następującego schematu:

- poletko Z: 20 samców i 30 samic myszy zaroślowej
- poletko L: 20 samców i 30 samic myszy leśnej
- poletko Z/L: po 10 samców i 15 samic obu gatunków myszy

W kolejnych powtórzeniach będziemy wykorzystywać te same poletka eksperymentalne, zmieniając jednak przydział grup myszy do poszczególnych poletek w sposób losowy.

Po 3 miesiącach myszy zostaną odłowione z poletek. W tym celu w każdym poletku zostanie umieszczonych 100 pułapek. Pułapki zostaną rozmieszczone w równych odległościach od siebie. Każda z pułapek, w zależności od usytuowania, zostanie przydzielona do jednej z dwóch kategorii: leśna (wnętrze lasu) lub łąkowa (skraj lasu i łąka). Odłów prowadzony będzie przez dwie, kolejne noce. Każda pułapka będzie sprawdzana co 2 godziny. Następnie zmierzemy długość ciała odłowionych osobników.

### **Opracowanie wyników**

#### Określenie preferencji siedliskowych badanych gatunków myszy.

Preferencje siedliskowe obu gatunków myszy zostaną określone na poletku Z/L. W tym celu użyty zostanie test chi kwadrat. Zakładamy, że jeśli nie ma różnic w preferencjach, to oba gatunki będą losowo rozmieszczone na poletku. Oczekujemy, że w tym wypadku połowa wszystkich złapanych osobników jednego gatunku zostanie odłowiona w pułapki jednej kategorii („leśne” lub „łąkowe”).



Porównanie preferencji siedliskowych myszy występujących w obecności lub braku drugiego gatunku (poletko Z i L).

Analiza dla myszy leśnej zostanie przeprowadzona w następujący sposób:

- obliczymy proporcje osobników myszy leśnej złapanych w pułapki „leśne” do wszystkich odłowionych osobników tego gatunku, osobno dla poletek L i Z/L
- proporcje otrzymane z wszystkich powtórzeń eksperymentu porównamy między poletkami testem Manna-Whitney’a.

Podobną analizę przeprowadzimy dla myszy zaroślowej biorąc pod uwagę poletka Z i Z/L.

Porównanie długości ciała.

Aby porównać długość ciała osobników myszy leśnej z poletka L i Z/L przeprowadzimy dwukierunkową analizę wariancji, gdzie pierwszym czynnikiem będzie rodzaj poletka, a drugim kolejne powtórzenia eksperymentu. Analogiczną analizę przeprowadzimy dla myszy zaroślowej, porównując osobniki z poletek Z i Z/L.

W przypadku wykazania zróżnicowania preferencji siedliskowych pomiędzy osobnikami z poletek jednogatunkowych i osobnikami z poletka dwugatunkowego przeprowadzone zostaną dodatkowe analizy w laboratorium. Porównane zostaną długości ciała myszy odłowionych na początku eksperymentu (przy zakładaniu hodowli) z długościami ciała osobników pokolenia F2 otrzymanego w laboratorium. Pozwoli to nam określić, czy różnice w długości ciała nie są spowodowane wyborem różnych siedlisk. Wykorzystamy tutaj dwukierunkową analizę wariancji, gdzie pierwszym czynnikiem będzie gatunek myszy (mysz zaroślowa lub leśna). Drugim czynnikiem będzie natomiast pokolenie: rodzicielskie i F2. Spodziewamy się istotności czynnika gatunek i braku istotności czynnika pokolenie. Taki wynik świadczyłby o dziedzicznym podłożu badanej cechy.

**Przewidywane wyniki.**

- spodziewamy się zaobserwować różnice w preferencjach siedliskowych między badanymi gatunkami w poletku Z/L
- spodziewamy się, że różnice w preferencjach siedliskowych między dwoma gatunkami myszy trzymanych na poletkach jednogatunkowych (Z i L) będą mniejsze niż te uzyskane z poletka dwugatunkowego (Z/L). Taki wynik świadczyłby, że wybiórczość siedliskowa nie jest dziedziczna. Może to wskazywać na aktualnie istniejącą konkurencję między tymi gatunkami.
- spodziewamy się, że różnice długości ciała myszy zaroślowej i leśnej będą się utrzymywać pomimo nieobecności drugiego gatunku. Wskazywałoby to na konkurencyjne rozszczepienie cech.

Takie przewidywania zgodne byłyby z założeniem, że cechy morfologiczne są odziedziczalne w większym stopniu, niż cechy historii życiowych.

# Wpływ niskich temperatur na tempo respiracji różnych typów próchnicy

Beata Klimek

Joanna Kluz

## Streszczenie

Wiadomo, jak temperatura i typ próchnicy wpływa na tempo respiracji, jednak zależności te nie zostały dobrze poznane dla zakresu temperatur bliskich 0°C. W naszym eksperymencie chcemy sprawdzić interakcje pomiędzy tymi dwoma czynnikami. Zmierzymy tempo respiracji dla trzech typów próchnicy leśnej: iglastej, liściastej oraz mieszanej po okresie inkubacji w pięciu temperaturach z zakresu -2 °C do +6 °C. Otrzymane wyniki pozwolą nam na określenie wpływu niskich temperatur na tempo respiracji różnych typów próchnicy leśnej oraz sprawdzenie czy pomimo średniego niższego tempa respiracji ściółka iglasta w temperaturach bliskich zeru ma wyższe tempo respiracji niż ściółki innych typów.

## Cel projektu

Wzrost temperatury powoduje wzrost tempa respiracji próchnicy niezależnie od jej pochodzenia. Natomiast w tych samych temperaturach próchnica pochodząca z lasu iglastego ma niższe tempo respiracji niż próchnice pochodzące z lasu liściastego i mieszanego. Różnice w parametrach fizykochemicznych powodują znaczne różnice w składzie zespołu mikroorganizmów glebowych. Może to spowodować różnice w reakcjach na temperaturę pomiędzy różnymi typami próchnicy w różnych zakresach temperatur. Celem projektu jest określenie wpływu niskich temperatur na tempo respiracji różnych typów próchnicy leśnej oraz sprawdzenie czy pomimo średniego niższego tempa respiracji ściółka iglasta w temperaturach bliskich zeru ma wyższe tempo respiracji niż ściółki innych typów.

Naszą hipotezą badawczą jest to, że niskie temperatury mają różny wpływ na wzrost tempa respiracji różnych typów próchnic. Spodziewanym wynikiem jest wyższe tempo respiracji próchnicy typu iglastego pomiędzy poszczególnymi temperaturami z badanego zakresu lub z jego części. Określenie tych różnic będzie przydatne do dokładniejszego szacowania ilości CO<sub>2</sub> uwalnianego z różnych typów ekosystemów leśnych.

## Stan wiedzy

W ekosystemach leśnych przepływ materii jest ograniczony przez tempo rozkładu zgromadzonej materii, ponieważ zawiera ona większość dostępnych nutrientów, które krążą między roślinami a glebą w niemal zamkniętym obiegu (Krebs, 1996). Dekompozycja materii organicznej polega na stopniowym uwalnianiu CO<sub>2</sub> oraz powstawaniu kwasów humusowych i może być opisana przez tempo respiracji warstwy próchnicznej. Tempo respiracji próchnicy zależy od wielu czynników, z czego najważniejsze to temperatura, wilgotność, skład chemiczny próchnicy oraz działalność mikroorganizmów glebowych. Cechy chemiczne i biologiczne w dużym stopniu są zależne od składu gatunkowego roślinności na stanowisku (Weiner, 1999). Różnice te znacząco różnią w składzie zespołu mikroorganizmów glebowych.

Wśród różnych typów próchnicy leśnej próchnica pochodząca z lasu iglastego ma zwykle niższe pH, wyższą zawartość ligniny, wosków i żywic w porównaniu z próchnicą pochodzącą z lasu liściastego i mieszanego, co znacznie spowalnia procesy rozkładu materii organicznej. Wiadomo też, że wzrost temperatury powoduje wzrost tempa respiracji każdego typu próchnicy. Dzieje się tak w zakresie temperatur dodatnich (do optimum termicznego dla różnych typów próchnicy), zależnego od składu mikroorganizmów.

## Metody

### Wybór miejsca i schemat poboru próbek

Próbki próchnicy pobierane będą na terenie Puszczy Niepołomickiej, dużego kompleksu leśnego położonego kilkanaście kilometrów na wschód od Krakowa. Do badań wybrane zostaną trzy typy lasów: las iglasty (bór sosnowy), las mieszany (bór sosnowo-dębowy) oraz las liściasty typu grąd (las dębowo-lipowo-grabowy). Próby będą pobierane podczas jednego wyjazdu terenowego na podstawie aktualnej mapy drzewostanu Puszczy Niepołomickiej. W każdym typie lasu próby pobierane będą według schematu siatki czterech kwadratów, czyli dziewięciu punktów oddalonych od siebie o pięć metrów. W każdym typie lasu zostaną wybrane losowo trzy takie miejsca. Położenie środka każdej siatki punktów zostanie określone za pomocą urządzeń GPS. Próby będą pobierane za pomocą metalowego próbnika do próchnicy o średnicy 5 cm. Po oddzieleniu roślin zielnych, mchu i gałązek próby zostaną przesiane przez sito o średnicy oczek 1 cm. Próby z każdego typu lasu będą dokładnie wymieszane w celu ich uśrednienia. W laboratorium wszystkie próby będą

wstępnie inkubowane w temperaturze +15°C przez siedem dni. W tym czasie zostaną wykonane standardowe analizy fizykochemiczne określające zawartość suchej masy w próbkach, zawartość materii organicznej w suchej masie, WHC (pojemność wodna), pH próchnicy w wodzie oraz zawartość N, Mg, Ca i K (tu cytacja).

#### Przygotowanie próbek i pomiar respiracji

Poziom respiracji zależy od zawartości materii organicznej i wilgotności, więc we wszystkich próbach będą one ustalone na tym samym poziomie: 10 g materii organicznej i 75% WHC. Zastosowane będzie po pięć powtórzeń dla każdego typu ściółki, z których wyliczona zostanie wartość średnia. Próbki każdego typu próchnicy będą umieszczane w pięciu komorach klimatycznych na czas siedmiu dni w temperaturach -2°C, 0°C, +2°C, +4°C, +6°C. Po upływie tego czasu zostaną przeprowadzone pomiary tempa respiracji za pomocą respirometru. Respiracja próbek będzie wyrażana jako ilość wydzielonego CO<sub>2</sub> na dobę na gram materii organicznej.

#### Analiza statystyczna

W statystycznym opracowaniu danych zostanie wykorzystana metoda analizy kowariancji. Zmienną zależną jest tempo respiracji. Zmienną niezależną jest typ lasu, z którego pochodzą próbki próchnicy. Drugą zmienną niezależną jest temperatura, w której będzie dokonywany pomiar tempa respiracji. W celu porównania poszczególnych par zastosowana zostanie analiza kowariancji jako test *a posteriori*.

#### **Przewidywane wyniki**

Otrzymane wyniki pozwolą na określenie wpływu temperatury na tempo respiracji różnych rodzajów ściółek oraz określenie istotności interakcji pomiędzy temperaturą (kowiariata) a rodzajem ściółki (czynnik główny), co pozwoli na stwierdzenie czy istnieje związek pomiędzy rodzajem ściółki a tempem jej respiracji oraz czy jest ono różne dla poszczególnych jej typów.

#### **Efekty końcowe**

Publikacje w międzynarodowych czasopismach naukowych, takich jak *Biogeochemistry*. Prezentacje i postery na bieżących konferencjach z zakresu ekologii gleby i biogeochemii w kraju i za granicą.

#### **Literatura**

Krebs C. J., 1996: Ekologia. PWN, Warszawa, s. 601-606  
Weiner J., 1999: Życie i ewolucja biosfery. PWN, Warszawa, s. 125-142, 220-233  
Standardowe procedury laboratoryjne

#### **Kosztorys**

W projekcie wykorzystane zostanie laboratorium i sprzętu laboratoryjnego(respirator, spektrofotometr, wagi, suszarki, piece) Zakładu Ekotoksykologii INOŚ.

Środki na zakup literatury, wyjazd do Puszczy Niepołomickiej.....	1 000 PLN
Szkło laboratoryjne, odczynniki chemiczne.....	2 000 PLN
Pięć komór klimatycznych z precyzyjną regulacją temperatury.....	20 000 PLN
Komputer z oprogramowaniem do analiz statystycznych.....	7 000 PLN
Wyjazdy na konferencje i przygotowanie publikacji.....	10 000 PLN
Wynagrodzenie dla autorów projektu (dwie osoby przez 2 miesiące).....	4 000 PLN

SUMA NAKŁADÓW: 44 000 PLN

## RECENZJE

**Adam Łomnicki**

### **Recenzja projektu „Wpływ niskich temperatur na tempo respiracji różnych typów próchnicy”**

Ten projekt ma jeden podstawowy brak. Nie dowiedziałem się z niego jaką hipotezę te badania mają obalić. Być może są jakieś powody dla których autorki przypuszczają, że tempo rozkładu próchnicy z drzew iglastych jest w niskich temperaturach wyższe, niż by to wynikało z badań w temperaturach wyższych, ale tych powodów w projekcie nie zdradziły. Recenzent naprawdę nie wie po co robić takie badanie. Dlaczego próchnice drzew iglastych w niskich temperaturach, a nie próchnicę traw w średnich temperaturach lub próchnice drzew orzechów włoskich w temperaturach wysokich? To jest jeden z podstawowych problemów uprawiania nauki. Nie wystarczy dokonywać czynności takich jak inni badacze, pobierać próby, standardowo przygotowywać je do badań, mierzyć respirację lub zawartość różnych pierwiastków i wyniki opracowywać laboratoryjnie. To jeszcze nie jest nauka, aczkolwiek dla postronnego obserwatora na naukę wygląda. Nauka zaczyna się wtedy, gdy wiemy po co to robimy i jakie korzyści (postęp wiedzy = sława, postęp technologii = pieniądze) z tego wynikają.

Nie wiedząc po co te badania nie jest też jasne co mają osiągnąć. Z tego projektu można sądzić, że autorki w niskich temperaturach spodziewają się wyższej respiracji w próchnicy iglastej niż w liściastej, ale co z tego ma wynikać?

Opis metod badawczych robi wrażenie zastosowania standardów używanych w podobnych badaniach respiracji próchnicy, ale ja się na tych metodach nie znam i nie potrafię ocenić czy zostały poprawnie opisane lub przepisane. Autorki nie podały natomiast celu stosowania takich, a nie innych procedur. Dlaczego ściółkę zbierać w 9 punktach siatki kwadratów? Po co uśredniać tracąc na zmienności? Dlaczego zaczynać od inkubacji w 15 stopniach i dlaczego prowadzić badania przez 7 dni, a nie dłużej lub krócej. Jeśli to są ogólnie przyjęte standardy to należy to napisać, a jeżeli wymyślone przez autorki, to umotywić. Co to znaczy, że konwariancja będzie stosowana jako test a posteriori.

To jest rzeczywiście bardzo niedobry projekt, nie wart finansowania, bo nie wiadomo po co ma być wykonywany

**Maciej Pabijan**

### **Recenzja projektu „Wpływ niskich temperatur na tempo respiracji różnych typów próchnicy”**

Celem pracy jest (1) zbadanie wpływu niskich temperatur na tempo respiracji próchnicy z lasu iglastego, mieszanego i liściastego oraz (2) określenie czy próchnica z lasów iglastych ma wyższe tempo respiracji w temperaturze bliskiej 0° w porównaniu do próchnic z innych typów lasów.

Wiadomo jaki wpływ ma temperatura na respirację próchnicy („wstęp” i „stan wiedzy”) – jej wzrost powoduje wzrost respiracji. Jeżeli skład gatunkowy mikroorganizmów i parametry fizykochemiczne są różne dla próchnic z wymienionych wyżej lasów to tempo respiracji też będzie inne. Dlatego zagadnienie nr 1 wydaje się dosyć trywialne. Klimek i Kluz muszą uzasadnić dlaczego uważają, że w temperaturze bliskiej zera spodziewają się różnic w tempie respiracji, albo jeszcze lepiej – uzasadnić dlaczego warto publiczne pieniądze wydawać na sprawdzenie tych zależności. Zagadnienie nr 2 jest intrygujące, ale również nieuzasadnione. Bo dlaczego akurat respiracja w iglastych miałaby być wyższa? Inaczej mówiąc, brakuje w pracy uzasadnienia stawianej hipotezy biologicznej. Przecież podjęty temat dotyczy bardzo aktualnych i dyskusyjnych problemów biologicznych – obieg węgla w przyrodzie, efekt cieplarniany, itd. Jeżeli laik – np. recenzent, który zna się tylko na trąszkach, przeczyta, że w pracy będą badane zjawiska dotyczące całej biosfery to na pewno będzie bardziej skłonny przeznaczyć na ten cel publiczne pieniądze.

Nie wiem czy praca dotyczy ściółki czy próchnicy.

Jeżeli próbki będą inkubowane w temperaturze 15C przez siedem dni to czy przez ten czas nie zajdzie jakaś zmiana w faunie (florze?) mikroorganizmów i/lub w parametrach fizyko-chemicznych? Kiedy będą zbierane próbki?

Ogólna prezentacja pracy jest poprawna. Niestety w jednym bardzo ważnym miejscu (cel projektu) znajdują się zdania niezbyt zgrabne, np. „Może to spowodować różnice w reakcjach na temperaturę pomiędzy różnymi typami próchnicy w różnych zakresach temperatur”. Drobne błędy stylistyczne zaznaczono w tekście.

Projekt jest do przyjęcia po gruntownym przemyśleniu i ponownym przedstawieniu celu badań.

**Ewa Rygielska**

## **Recenzja projektu „Wpływ niskich temperatur na tempo respiracji różnych typów próchnicy”**

W streszczeniu w pierwszym zdaniu czytamy: "Wiadomo, jak temperatura i typ próchnicy wpływa na tempo respiracji. ...." Może lepiej byłoby tu napisać to, co autorki napisały w pierwszych dwóch zdaniach celu projektu: "Wzrost temperatury powoduje wzrost tempa respiracji próchnicy niezależnie od jej pochodzenia. Natomiast w tych samych temperaturach próchnica pochodząca z lasu iglastego ma niższe tempo respiracji niż próchnice pochodzące z lasu liściastego i mieszanego."

Nie bardzo rozumiem hipotezę badawczą, która brzmi: ...niskie temperatury mają różny wpływ na wzrost tempa respiracji różnych typów próchnic." Wydaje mi się, że w niskich temperaturach tempo respiracji spada, a nie wzrasta. Poza tym hipoteza badawcza zawiera błędy stylistyczne i jest niezbyt jasno sformułowana.

Wydaje mi się, że jednorazowe pobranie prób tylko z obszarów jednej puszczy nie wystarczy do tego, aby wyniki tych badań były wiarygodne. Przecież podobną procedurę można by było przeprowadzić dla jeszcze kilku innych zbiorowisk leśnych. Poza tym można by było pobrać, co najmniej trzykrotnie takie serie prób w odstępach tygodniowych lub dwutygodniowych. Moim zdaniem umożliwiłoby to uzyskanie niezależnych powtórzeń i umocniłoby wynik.

W projekcie brakuje informacji, w jakim okresie roku będą pobierane próbki. Wydaje mi się, że w zależności od pory roku w ściółce występują różne organizmy, zmieniają się ich zagęszczenia oraz proporcje, co może mieć znaczący wpływ na respirację. Skoro autorki chcą badać tempo respiracji w niskich temperaturach powinny pobrać te próbki wtedy, kiedy takie temperatury panują w środowisku już od dłuższego czasu. np. późną jesienią.

Wydaje mi się, że opisana w metodach wstępna inkubacja prób w temperaturze 15°C może zaburzyć wyniki. Co podczas takiej inkubacji będzie się działo z mikroorganizmami? Czy nie lepiej byłoby przetrzymać te próbki w temperaturze podobnej, jaka była w środowisku podczas ich zbierania, zachowując dobowe zmiany temperatury lub przynajmniej stosując średnią dobową temperaturę z okresu pobierania prób?

Celem projektu jest określenie wpływu niskich temperatur na tempo respiracji różnych typów próchnicy. Nie wiem, w jakim celu autorki zamierzają zmierzyć zawartość N, Mg, Ca, K we wszystkich typach próchnicy i jaki wpływ na tempo respiracji mają te pierwiastki.

Brak wyraźnie napisanej hipotezy zerowej.

Wydaje mi się, że pomysł zbadania tempa respiracji ściółki w niskich temperaturach jest bardzo ciekawy i wart realizacji. Cały projekt jednak napisany jest niezbyt jasno. Myślę, że należałoby wprowadzić sporo poprawek. Autorki powinny zastanowić się nad tym czy może warto było by przeprowadzić podobne badania w innych kompleksach leśnych oraz nad tym czy inkubując ściółkę w 15° nie popełniają błędu metodycznego. Myślę, że po wprowadzeniu poprawek warto skierować projekt do ponownej recenzji.

## **OSTATECZNA WERSJA PROJEKTU**

### **Wpływ niskich temperatur na tempo respiracji różnych typów próchnicy leśnej**

**Beata Klimek**

**Joanna Kluz**

#### **Streszczenie**

Wzrost temperatury powoduje wzrost tempa respiracji każdego rodzaju próchnicy leśnej. Natomiast w tych samych temperaturach próchnica pochodząca z lasu iglastego ma niższe tempo respiracji niż próchnica pochodząca z lasu liściastego i mieszanego. Przypuszczamy, że próchnica pochodząca z lasu iglastego ze względu na niższe pH ulega zamarzaniu w niższej temperaturze. U zespołu mikroorganizmów glebowych charakterystycznego dla takiej próchnicy może występować też większa odporność na warunki termiczne. Zmierzymy tempo respiracji dla trzech typów próchnicy leśnej: iglastej, liściastej oraz mieszaney po okresie inkubacji w pięciu temperaturach z zakresu od -4 °C do +4 °C. Celem naszego projektu jest sprawdzenie, czy w zakresie niskich temperatur różne rodzaje próchnicy różnią się tempem respiracji. Chcemy także sprawdzić, czy pomimo średniego niższego tempa respiracji w zakresie wyższych temperatur, w temperaturach bliskich zeru próchnica lasu iglastego ma wyższe tempo respiracji niż ściółki innych typów.

## Wstęp

W ekosystemach leśnych przepływ materii jest ograniczony przez tempo rozkładu zgromadzonej materii, ponieważ zawiera ona większość dostępnych nutrientów, które krążą między roślinami a glebą w niemal zamkniętym obiegu (Krebs, 1996). Dekompozycja materii organicznej polega na stopniowym uwalnianiu CO<sub>2</sub> oraz powstawaniu kwasów humusowych i może być opisana przez tempo respiracji warstwy próchniczej. Zależy ono od wielu czynników, z czego najważniejsze to temperatura, wilgotność, skład chemiczny (poziom pH oraz ilość łatwo rozkładalnych związków organicznych) oraz działalność mikroorganizmów glebowych. Różnice w parametrach fizykochemicznych próchnicy powodują znaczne różnice w składzie zespołu mikroorganizmów glebowych. Wzrost temperatury oraz wilgotności do optimum powoduje wzrost tempa respiracji każdej próchnicy. Natomiast próchnica z lasu iglastego ma niższe tempo respiracji w tych samych temperaturach niż próchnice pochodzące z lasu liściastego i mieszanego. Próchnica z lasu iglastego stanowi materiał trudniej rozkładalny, ze względu na niższe pH, wyższą zawartość ligniny, wosków i żywic (Weiner, 1999).

Niskie pH zwiększa rozpuszczalność soli, a wyższe zasolenie roztworu glebowego spowalnia zamarzanie. Można więc przypuszczać, że próchnica typu iglastego zamarza wolniej i w niższej temperaturze niż inne rodzaje próchnicy leśnej. W związku z tym u zespołu mikroorganizmów występujących w takiej próchnicy może występować też większa odporność na warunki termiczne (Elberling, 2003). Oznaczałoby to, że w zakresie temperatur bliskich zeru, mikroorganizmy w próchnicy iglastej mogą wykazywać aktywność metaboliczną przez respirację w niższych temperaturach niż inne rodzaje próchnicy.

Zbadanie tempa respiracji próchnicy z różnych typów lasów w zakresie temperatur bliskich zeru ma duże znaczenie w zrozumieniu dynamiki procesów dekompozycji. Będzie to również służyć do dokładniejszego szacowania ilości CO<sub>2</sub> uwalnianego z różnych typów ekosystemów leśnych w rejonach globu, gdzie przez znaczną część roku panują niskie temperatury. Jest to ważne również z tego względu, że większą część lasów chłodniejszych stref klimatycznych stanowią lasy iglaste. Jest to niezbędne przy prognozowaniu skutków tzw. efektu cieplarnianego (Schlesinger, 2000). Ponieważ znane jest zjawisko utrzymywania się niewysokich, ale dodatnich temperatur pod warstwą śniegu pomimo temperatur powietrza znacznie poniżej zera, nasze badania mogą także pomóc w szacowaniu jego wpływu na całoroczne tempo obiegu węgla na tych terenach.

## Cel projektu

Celem naszego projektu jest zbadanie tolerancji tempa respiracji różnych rodzajów próchnic na niskie temperatury. Badania przeprowadzimy w warunkach laboratoryjnych. Uważamy, że przy użyciu nowoczesnego sprzętu laboratoryjnego jesteśmy w stanie dokonać takich precyzyjnych pomiarów. Naszą hipotezą badawczą jest to, że w zakresie temperatur bliskich zeru różne rodzaje próchnic leśnych różnią się pomiędzy sobą tempem respiracji w zależności od temperatury. Spodziewamy się, że pomimo średniego niższego tempa respiracji w temperaturach bliskich zeru próchnica iglasta może rozpocząć procesy respiracji w niższych temperaturach niż pozostałe rodzaje próchnicy.

## Metody

### Wybór miejsca i schemat poboru próbek

Próbki próchnicy pobierane będą na terenie Puszczy Niepołomickiej, dużego kompleksu leśnego położonego kilkanaście kilometrów na wschód od Krakowa. Do badań wybrane zostaną trzy typy lasów: las iglasty (bór sosnowy), las mieszany (bór sosnowo-dębowy) oraz las liściasty typu grąd (las dębowo-lipowo-grabowy). Próby będą pobierane podczas jednego wyjazdu terenowego na podstawie aktualnej mapy drzewostanu Puszczy Niepołomickiej.

W każdym typie lasu próby pobierane będą według metody schematu siatki szesnastu kwadratów, czyli dwudziestu pięciu punktów oddalonych od siebie o dziesięć metrów. Układ ten pozwoli na pobranie reprezentatywnych prób dla danego typu lasu. Położenie środka każdej siatki punktów zostanie określone za pomocą urządzenia GPS, co umożliwi dokładną lokalizację naszych stanowisk.

Próby próchnicy będą wycinane z podłoża w formie kwadratu o boku 30 centymetrów. Dbać będziemy, aby zebrać całą warstwę próchnicy. Duża powierzchnia próby ma zapewnić, że niezależnie od grubości warstwy próchniczej, znajdzie się tam ilość materii organicznej wystarczająca do wykonania eksperymentu. Próby będą wycinane z podłoża za pomocą łopatk, umieszczane w osobnych pojemnikach bez zaburzania ich pionowej struktury i przewiezione do laboratorium. Te próby próchnicy zostaną użyte do zbadania tempa respiracji. W każdym miejscu, skąd zostanie pobrana próba próchnicy, zostanie zmierzona temperatura przy powierzchni gruntu. W sumie pobranych będzie 75 prób, po 25 dla każdego typu lasu.

Przed wycięciem każdego kwadratu, na jego rogach za pomocą metalowego próbnika o średnicy 3 centymetrów będą wycięte cztery próbki warstwy próchniczej. Próby te będą przesiane przez sito i zebrane

razem, ale już oddzielnie dla każdego kwadratu i zostaną użyte do zmierzenia niektórych parametrów fizykochemicznych.

#### Przygotowanie próbek i pomiar respiracji

W laboratorium zostaną wykonane standardowe analizy fizykochemiczne (Robertson, Coleman: Standard Soil Methods)) w celu określenia w próbkach zebranych za pomocą próbnika na rogach każdego kwadratu: zawartość suchej masy w próbkach zawartość materii organicznej w suchej masie oraz WHC (pojemność wodna). Próby główne zostaną umieszczone w tym czasie (jeden dzień) w średniej temperaturze zmierzonej przy powierzchni gruntu podczas ich pobierania. Poziom respiracji silnie zależy od wilgotności, więc we wszystkich próbkach będzie ona ustalona na poziomie 75% WHC. Woda będzie uzupełniana na codziennie, w celu zapobieżenia nadmiernego przesuszenia próbek. Próbki każdego typu próchnicy będą umieszczane w pięciu komorach klimatycznych na okres siedmiu dni w temperaturach -4 °C, -2 °C, 0 °C, +2 °C, +4 °C. Po tym czasie zostaną przeprowadzone pomiary tempa respiracji za pomocą respirometru. Respiracja próbek będzie wyrażana jako ilość wydzielanego CO<sub>2</sub> na dobę na gram materii organicznej.

#### Analiza statystyczna

W statystycznym opracowaniu danych zostanie wykorzystana metoda analizy kowariancji. Zmienną zależną jest tempo respiracji. Zmienną niezależną jest typ lasu, z którego pochodzą próbki próchnicy. Drugą zmienną niezależną jest temperatura, w której będzie dokonywany pomiar tempa respiracji. W przypadku wykazania istotności interakcji jako test *a posteriori* w celu porównania poszczególnych par zastosowana zostanie analiza regresji.

#### **Przewidywane wyniki**

Spodziewamy się, że interakcja pomiędzy temperaturą (kowiariata) a rodzajem ściółki (czynnik główny) będzie istotna, co pozwoli na stwierdzenie, że w zakresie niskich temperatur różne rodzaje próchnicy różnią się tempem respiracji w zależności od temperatury. Spodziewamy się również, że mikroorganizmy w próchnicy iglastej będą wykazywać wyższe tempo respiracji w niższych temperaturach niż inne rodzaje próchnicy. Nasz eksperyment można łatwo rozszerzyć na próchnicę pochodzącą z innych typów ekosystemów występujących w rejonach niskich temperatur.

#### **Efekty końcowe**

Publikacje w międzynarodowych czasopismach naukowych, takich jak *Biogeochemistry*. Prezentacje ustne i postery na bieżących konferencjach z zakresu ekologii gleby i biogeochemii w kraju i za granicą.

#### **Literatura**

- Elberling B., Brandt K., 2003 – Uncoupling of microbial CO<sub>2</sub> production and release in frozen soil and its implication for field studies of arctic C cycling – *Soil Biology & Biochemistry*, 35: 263-272  
Krebs C. J., 1996: *Ekologia*. PWN, Warszawa, s. 601-606  
Weiner J., 1999: *Życie i ewolucja biosfery*. PWN, Warszawa, s. 125-142, 220-233  
Robertson G., Coleman D., 1999: *Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research*. LTER, Oxford  
Schlesinger W., Andrews J., 2000 – Soil respiration and the global carbon cycle - *Biogeochemistry*, 48: 7-20

#### **Koszty**

W projekcie wykorzystane zostanie laboratorium i sprzęt laboratoryjny (respirometr, spektrofotometr, wagi, suszarki, piece) Zakładu Ekotoksikologii INOŚ.

Środki na zakup literatury, wyjazd samochodem terenowym do Puszczy Niepołomickiej.....	1 000 PLN
Szkło laboratoryjne, odczynniki chemiczne.....	2 000 PLN
Pięć komór klimatycznych z precyzyjną regulacją temperatury.....	20 000 PLN
Komputer z oprogramowaniem do analiz statystycznych.....	7 000 PLN
Wyjazdy na konferencje i przygotowanie publikacji.....	10 000 PLN
Wynagrodzenie dla autorów projektu (dwie osoby przez 2 miesiące).....	4 000 PLN
Koszty pośrednie.....	4 250 PLN
SUMA NAKŁADÓW: 48 250 PLN	

## **Wpływ temperatury na historii życia traszki górskiej (*Triturus alpestris*) pochodzącej z terenów górskich i nizinnych.**

**Anna Stefanowicz  
Ewa Rygielska**

### **Streszczenie**

Traszka górska (*Triturus alpestris*) występuje zarówno na terenach górskich jak i na nizinach. Czas trwania poszczególnych etapów historii życia różni się u obu traszek (jest dłuższy u traszki górskiej pochodzącej z terenów górskich). Różnice te wynikają z różnych warunków termicznych i troficznych obu środowisk.

Przypuszczamy, że traszki pochodzące z różnych terenów będą różniły się ilością i wielkością składanych jaj. Chcemy sprawdzić czy traszka górska pochodząca z terenów górskich, ze względu na trudniejsze warunki środowiska, złoży mniejszą liczbę większych jaj, co zwiększyłoby szansę przeżycia potomstwa.

Interesujące jest również czy zmiana warunków środowiska, w którym odbywa się rozwój traszek wpłynie na zmianę czasu trwania poszczególnych etapów rozwoju.

### **Wstęp**

Traszka górska ma bardzo szerokie spektrum występowania. Można ją spotkać na terenie całej Europy począwszy od obszarów płozonych na wysokości poziomu morza, skończywszy na obszarach znajdujących się na wysokości 2.5 tys m n.p.m. (Alpy) (Juszczuk, W. 1987).

W Polsce gatunek ten występuje pospolicie w Karpatach, Sudetach, na Pogórzu Karpackim i Sudeckim oraz w górach Świętokrzyskich. Na terenach nizinnych można ją spotkać w okolicach Zielonej Góry i Wrocławia (Juszczuk, W. 1987).

Traszka górska charakteryzuje się złożonym cyklem życiowym. Dorosłe osobniki żyją na lądzie. Wczesną wiosną wchodzą do zbiorników wodnych gdzie odbywają gody. Samice składają około 200 jaj przez okres 1 - 2 miesiące zawijając je pojedynczo w liście roślin wodnych. Po kilku dniach z jaj wylęgają się larwy odżywiające się zooplanktonem. Po okresie kilku miesięcy następuje przeobrażenie larw w osobniki dorosłe, które po kilku latach osiągają dojrzałość płciową (Juszczuk, W. 1987). Zaobserwowano, że poszczególne etapy rozwoju różnią się czasem trwania u traszek pochodzących z terenów górskich i tych pochodzących z terenów nizinnych (Maciej Pabijan, informacja ustna). Czas od wyklucia do przeobrażenia się larwy w osobnika dorosłego waha się w granicach 3 - 4 miesięcy i jest dłuższy na terenach górskich, natomiast osiągnięcie dojrzałości płciowej przez osobnika dorosłego następuje po okresie dwóch lat na terenach nizinnych i po około 5-7 latach na terenach górskich (Maciej Pabijan, informacja ustna).

### **Cel projektu**

Celem projektu będzie zbadanie wpływu wielkości jaj oraz temperatury w której rozwijają się osobniki na długość trwania poszczególnych etapów historii życia traszki górskiej pochodzącej z terenów górskich (Tgg) i traszki górskiej pochodzącej z terenów nizinnych (Tgn).

Oczekujemy, że wielkość i liczba jaj traszek pochodzących z obu terenów będzie się różniła. Przypuszczamy również, że temperatura hodowli będzie miała wpływ na długość trwania wszystkich etapów historii życia u traszek pochodzących z obu terenów.

### **Materiały i metody**

Odłowimy 20 zapłodnionych samic traszki, z czego 10 będzie pochodziło z 3 zbiorników na terenie Karpat, a 10 z 3 zbiorników na terenie nizinnym w okolicach Zielonej Góry. Każdą samicę traszki umieścimy (do czasu złożenia jaj) w 30 litrowym akwarium w wodzie o temperaturze odpowiadającej średniej temperaturze wody z trzech zbiorników znajdujących się na terenie z którego pochodzi dana traszka. Temperaturę taką uzyskamy wstawiając akwaria z traszkami do 2 łaźni wodnych, w których odpowiednia temperatura utrzymywana będzie za pomocą termostatów. W każdym akwarium umieścimy rośliny wodne z gatunku *Mentha aquatica*, aby traszki mogły składać na nich jaja.

Podczas pierwszej części okresu składania jaj przez traszki (około 8 dni) jaja będziemy na bieżąco usuwać z akwariów w odstępach 12 godzinnych (po uzyskaniu odpowiedniej liczby jaj będziemy kolejne odławiać jedynie w celu uzyskania całkowitej liczby jaj zniesionych przez każdą z samic). I tak po upływie pierwszych 12 godzin jaja pochodzące od każdej traszki w losowy sposób będziemy dzielić na 3 równe części: pierwszą część jaj zważymy i zmierzmy (po usunięciu galaretowatej otoczki), kolejne dwie części będziemy umieszczać w 2 akwariach (jedno akwarium z wodą o niskiej temperaturze - odpowiadającej średniej temperaturze wody z 3 zbiorników górskich, drugie akwarium z wodą o wysokiej temperaturze - odpowiadającej średniej temperaturze wody z 3 zbiorników nizinnych) w taki sposób aby jaja traszek pochodzących z obu terenów były eksponowane na obie temperatury. Otrzymamy w ten sposób 4 warianty eksperymentu: (jaja Tgg eksponowane na niską temperaturę, jaja Tgg eksponowane na wysoką temperaturę, jaja Tgn eksponowane na



niską temperaturę i jaja Tgn eksponowane na wysoką temperaturę). Po kolejnych 12 h znów użyjemy kolejnych 2 akwariów dla traszek z każdego z terenów i zastosujemy podobny podział jaj na 3 części. Tak będziemy postępować aż do momentu uzyskania w każdym wariancie 15 jaj od każdej samicy czyli po 150 jaj dla każdego z 4 wariantów eksperymentu. Akwaria z jajami traszek w celu zapewnienia odpowiedniej temperatury umieszczać będziemy w 2 łaźniach wodnych.

Pozwoli nam to zbadać wpływ temperatury na czas rozwoju jaj oraz długość okresu larwalnego u tych zwierząt. Dodatkowo możemy zmierzyć wielkość larwy w momencie wyklucia oraz wielkość larwy w momencie przeobrażenia (za ten moment uznajemy wykształcenie 5 palców na wszystkich kończynach).

### Oczekiwane wyniki

Oczekujemy, że Tgg będzie składała mniejszą liczbę jaj o większych rozmiarach ciała niż Tgn. Związane to może być z trudniejszymi warunkami termicznymi, troficznymi i krótszym sezonem wegetacyjnym środowiskach górskich. W tej sytuacji złożenie mniejszej ilości jaj ale za to lepiej zaopatrzonych w substancje odżywcze zwiększać może szansę przeżycia potomstwa.

Oczekujemy również, że jaja Tgg trzymane w temperaturze niższej będą rozwijały się wolniej niż jaja tej samej traszki przeniesione do wyższej temperatury. Podobnie jaja Tgn umieszczone w niższej temperaturze będą rozwijały się wolniej niż jaja Tgn umieszczone w temperaturze wyższej.

Możemy się też spodziewać, że jaja Tgg będą rozwijały się szybciej niż jaja Tgn zarówno w niskiej jak i wysokiej temperaturze. Mogłoby to być związane z tym, że są one większe i lepiej zaopatrzone w materiały zapasowe, przez to są lepiej przystosowane do szybkiego rozwoju w trudnych warunkach. Spodziewamy się też, że zarodki które wyklują się z jaj Tgg będą większe w obu temperaturach niż zarodki wykluwające się z jaj Tgn, co może wpłynąć na długość okresu larwalnego.

### Analizy statystyczne

Hipotezy zerowe:

- 1) Nie zaobserwujemy zmian w liczbie i wielkości złożonych jaj przez samice pochodzące z obu środowisk.
- 2) Nie zaobserwujemy zmiany czasu trwania poszczególnych etapów historii życia u traszek przy zmianie temperatury wody, w której się rozwijają.
- 3) Nie zaobserwujemy zmian pomiędzy długością trwania poszczególnych etapów historii życia u traszek pochodzących z obu terenów rozwijających się w tej samej temperaturze.

W celu określenia różnic w liczebności i wielkości jaj Tgg i Tgn zastosujemy test analizy wariancji z powtórzeniami. Zmienną niezależną będzie pochodzenie traszki. Zmiennymi zależnymi będzie liczebność i wielkość jaj.

Za pomocą dwukierunkowej analizy wariancji sprawdzimy czy występują różnice w czasie rozwoju jaj oraz w długości okresu larwalnego u Tgg i Tgn hodowanych w różnych temperaturach. Zmiennymi niezależnymi będzie pochodzenie traszek i temperatura wody, zmiennymi zależnymi będą natomiast czas rozwoju jaj oraz długość okresu larwalnego.

Wystąpienie różnic w liczbie i wielkości składanych jaj przez traszki pochodzące z różnych terenów świadczyć może o różnicach w ich strategiach życiowych które mogą być spowodowane przystosowaniem do różnych warunków środowiska.

### Literatura:

Juszczak, W. *Płazy i Gady Polski*, PWN Warszawa, 1987

### Koszty:

Sprzęt:

akwarium 30 l - 20 szt.	1600 zł
akwarium 15 l - 32 szt.	700 zł
akwarium 100 l - 4 szt	320 zł
waga	1500 zł
napowietrzacze - 52 szt	2000 zł
termostaty i chłodnice -4 szt	8000 zł
przyrządy miernicze	300 zł

Materiały:

pokarm dla zwierząt	2000 zł
materiały biurowe	300 zł

Delegacje i Honoraria:	
wyjazdy terenowe	800 zł
honoraria dla autorów	4000 zł
wyjazdy na konferencje	7000 zł
koszt publikacji	1000 zł
SUMA	29600 zł

## RECENZJE

**Adam Łomnicki**

### **Recenzja projektu „Wpływ temperatury na historie życia traszki górskiej (*Triturus alpestris*) pochodzącej z terenów górskich i nizinnych**

W tym projekcie brakuje mi szerszej perspektywy, bo z opisu wynika że autorki chcą sprawdzić czy różnice między traszkami z różnych terenów, to różnice genetyczne czy też plastyczność fenotypowa. Tu po prostu chodzi o badanie normy reakcji traszki górskiej z różnych obszarów umieszczonych w tych samych warunkach środowiskowych. Ale niestety tego jasno nie powiedziano. Nie powiedziano też jednoznacznie, że o istnieniu różnic między traszkami z różnych obszarów już wiemy i nie to jest przedmiotem proponowanych badań. Biorąc powyższe pod uwagę cel projektu jest napisany źle, bo brak tam hipotezy i hipotezy alternatywnej. Z tych dwóch hipotez powinny wynikać jakieś przewidywania (a nie oczekiwania bo oczekiwanie jest terminem pozytywnie wartościującym, a uczony nie powinien przywiązywać się do hipotez), które pozwolą albo przyjąć albo obalić naszą hipotezę. A tu z braku hipotez nie wiadomo do czego autorki dążą: do potwierdzenia już posiadanej wiedzy, do wyjaśnienia czy różnice są adaptacjami (a może koniecznością fizyczną) i jakie jest ich podłoże.

Nie wiem dlaczego do liczby i wielkości jak stosować się będzie prostą analizę wariancji, a do rozwoju jaj i długości okresu larwalnego – dwukierunkowa. A ostatnie zdanie tekstu przed literaturą jest tak ogólnikowe, że nie niesie za sobą żadnej informacji. Traszki nie różnią się ilością (str 1), ale liczbą składanych jaj. Dlaczego zbierając traszki z 3 różnych zbiorników nie zbieramy 9 lub 12 ale 10? Cytując pozycje literatury nie piszemy inicjałów imienia autora, ani przecinka przed rokiem wydania.

Podsumowując, to nawet nie jest zły projekt, ale podobnie jak projekty wielu polskich młodych badaczy ma żabią perspektywę, a w nauce trzeba robić rzeczy które przynoszą albo sławę (wyraźny postęp w nauce) albo pieniądze (zastosowanie praktyczne). Na takie dłubanie sobie szkoda życia.

**Ryszard Korona**

### **Recenzja projektu „Wpływ temperatury na historie życia traszki górskiej (*Triturus alpestris*) pochodzącej z terenów górskich i nizinnych**

Pytania zadawane przez autorki wydają się być proste i jasno sformułowane. Są takimi gdy rozpatrujemy same hipotezy zerowe, które zakładają brak różnic w liczbie i wielkości jaj, oraz brak różnic w tempie rozwoju. Gorzej jest gdy przez hipotezy rozumiemy oczekiwania badaczy i próby apriorycznej interpretacji możliwych wyników. Skąd bierze się na przykład oczekiwanie, że jaja składane w chłodzie będą większe? To zapewne pomogłoby larwom, ale czy osobniki dorosłe potrafią wyprodukować jaja większe w trudniejszych warunkach? Niepewne jest też czy im jaja większe tym szybciej mają się rozwijać. Z tej ostatniej trudności autorki zdają sobie sprawę. Jeśli występują takie trudności interpretacyjne to należy je wyjaśniać i usystematyzować poprzez rozpatrywanie przewidywań ogólnych modeli historii życia lub przez odwołanie się do dostępnych już danych o gatunku badanym lub jemu pokrewnych. Obu tych elementów zabrakło w przedstawionym projekcie.

Nie jest dla mnie jasne dlaczego jaja zostaną pobrane od dziesięciu tylko osobników nizinnych i dziesięciu górskich. Zapewne ograniczeniem jest tutaj fakt ochrony gatunkowej, ale tego nie napisano. Gorzej, że wszystkie 10 osobników nizinnych ma pochodzić z jednej okolicy, a 10 górskich z Karpat. Jest to mecz Zielona Góra - Karpaty, a nie Niziny – Góry. Należałoby raczej wybrać po dwie samice z pięciu (jeśli nie można więcej) możliwie odrębnych miejsc nizinnych i pięciu górskich. Stosować potem hierarchiczną analizę wariancji.

Jaja będą zbierane przez dłuższy czas w odstępach 12 h. Może się zdarzyć, że wielkość jaj lub tempo ich składania zmienia się w czasie. Proponowane analizy nie uwzględniają tego czynnika.

Kalkulacja kosztów jest chyba poprawna, nigdy nie prowadziłem podobnych badań.

Podsumowując, badania na przedstawiony temat są potencjalnie warte przeprowadzenia, ale przedłożony projekt nie dojrzał jeszcze do realizacji.

**Maciej Dańko**

### **Recenzja projektu „Wpływ temperatury na historie życia traszki górskiej (*Triturus alpestris*) pochodzącej z terenów górskich i nizinnych**

Recenzowany projekt dotyczy wpływu wielkości jaj oraz temperatury wody na czas rozwoju jaj i długości okresu larwalnego u traszek górskich pochodzących z populacji górskich i nizinnych. Temat projektu jest ciekawy i godny uwagi. Trudno jest przewidzieć ostateczne wyniki, co niewątpliwie przemawia na jego plus. Przedstawiony projekt jest jednak niezrozumiały, jest w nim wiele uchybień i niedomówień. W materiałach i metodach nie jest wyjaśnione w jaki sposób można odróżnić zapłodnione traszki od niezapłodnionych? Przypuszczam, że chodzi tu o możliwość wycucia jaj, jednak brakuje informacji o tym w tekście. Nie jest napisane w ilu akwariach umieszczone zostaną odłowione samice, czytelnik może domyślać się tego faktu jedynie na podstawie sporządzonego kosztorysu. Ponadto uważam, że branie średniej temperatury ze zbiorników nie jest dobrą metodą, ponieważ zbiorniki mogą bardzo różnić się między sobą pod względem tej cechy, a więc także pod względem historii życiowych traszek. Szczególnie zbiorniki leżące w górach na różnych wysokościach mogą znacznie różnić się średnimi temperaturami, jak i ich rocznymi zmianami. Trzeba zaznaczyć, że traszki będą pobierane z podobnych zbiorników. Należy rozważyć, czy rozmiar osobników z gór nie będzie się różnił od osobników z nizin, ponieważ mogło by to wpływać na badane tutaj cechy historii życiowej. Nie jest jasno powiedziane jak długo będzie trwał eksperyment, co nie daje możliwości korekty wynagrodzeń, które przyznały sobie osoby odpowiedzialne za ten projekt. Metody ponadto są bardzo niejasne, tak naprawdę nie wiadomo, co autorki zamierzają zrobić. Uważam, że takie lekkoduszne planowanie eksperymentu napewno nie będzie dobrze świadczyło o kompetencji jego wykonawców. Komisja widząc takie uchybienia na etapie planowania może nie mieć zaufania do jego autorów.

#### **Wnioski:**

Niejasny plan wykonania eksperymentu i cele skłaniają do przypuszczeń, że autorki same jeszcze dokładnie nie wiedzą jak wykonają eksperyment. Przypuszczam, że wniosek o grant zostałby odrzucony.

**Tomasz Wilk**

### **Recenzja projektu „Wpływ temperatury na historie życia traszki górskiej (*Triturus alpestris*) pochodzącej z terenów górskich i nizinnych**

Recenzowany projekt dotyczy wpływu wielkości jaj oraz temperatury wody na czas rozwoju jaj i długości okresu larwalnego traszek górskich pochodzących z populacji górskich i nizinnych. Autorki zakładają, że traszki górskie z populacji górskich, ze względu na trudne warunki środowiskowe/troficzne będą składały większe jaja, a co za tym idzie okres ich rozwoju oraz długość okresu larwalnego będą krótsze, a także, że zmiana temperatury wody w hodowli wpłynie na długość trwania tych etapów historii życiowej.

Projekt jest poprawnie skonstruowany, zawierając wszystkie niezbędne rozdziały z adekwatną do nich treścią.

"Wstęp" napisany jest przejrzyście, brakuje tu jedynie przykładów lub ogólnych informacji o inwestowaniu większych zasobów w mniejszą liczbę jaj w trudnych warunkach środowiskowych.

Cele projektu są niezbyt czytelnie przedstawione. Autorki sugerują, że chcą badać wpływ temperatury na długość trwania poszczególnych etapów historii życiowych (co zresztą aż 2-krotnie napisano w tym rozdziale), a w rzeczywistości określany będzie wpływ *zmian* temperatury na analizowane cechy. Oczekiwane są różnice w wielkości i liczbie jaj składanych przez samice z obydwu populacji, ale nie napisano skąd te oczekiwania.

Metodyczna część projektu jest najsłabszym jego punktem. Trudno ogarnąć całość eksperymentu, z kilkudziesięcioma akwariami używanymi do różnych celów (prawdopodobnie rysunkowy schemat eksperymentu bardzo by tu pomógł). Niektóre zdania brzmią bardzo enigmatycznie i trudno zrozumieć o co w nich chodzi, np: "po uzyskaniu odpowiedniej liczby jaj będziemy kolejne odławiać jedynie w celu uzyskania

całkowitej liczby jaj zniesionych przez każdą z samic”. Nie wytłumaczono, dlaczego jaja będą usuwane z akwariów co 12 godzin. Napisano, że odławiane z natury będą traszki zapłodnione, podczas gdy chodzi prawdopodobnie o traszki ciężarne. Mylnie 4 grupy eksperymentalne nazwano “wariantami eksperymentu”.

Przeczytanie rozdziału “Oczekiwane wyniki” nasuwa konkluzje, że nie będą to badania zbyt odkrywcze. Przewidywania, że jaja trzymane w cieplejszej wodzie będą rozwijać się szybciej oraz że jaja traszek z populacji górskiej będą rozwijać się szybciej niż traszek z nizin są intuicyjne (dodatkowo to drugie założenie jest już wg. autorkę częściowo udowodnione! – patrz “Wstęp”). W rozdziale tym proponowałbym także nieużywanie skrótów Tgg i Tgn, tylko pisanie pełnych nazw. Przy wymienianiu hipotez zerowych niefortunne wydaje się ich zaczynanie od zwrotu “Nie zaobserwujemy...”.

Ponadto omawiany projekt zawiera też drobniejsze usterki: błędy interpunkcyjne i stylistyczne, literówki oraz co szczególnie razi – zły sposób cytacji (z inicjałem imienia autora). Ponadto przeszkadza niekiedy ‘przegadany styl’ wypowiedzi np. “traszka górską ma bardzo szerokie spektrum występowania” lub uporczywe powtarzanie “traszki pochodzące z terenów górskich” (zamiast ‘traszki z gór’).

Reasumując projekt napisany jest poprawnie, niestety zawilość metodycznej jego części oraz niezbyt interesujący problem jaki chce poruszyć powodują moją niezbyt pozytywną ocenę.

**Zbyszek Boratyński**

### **Recenzja projektu „Wpływ temperatury na historie życia traszki górskiej (*Triturus alpestris*) pochodzącej z terenów górskich i nizinnych**

Celem projektu jest oszacowanie wpływu wielkości jaj oraz temperatury w której rozwijają się jaja na długość trwania poszczególnych etapów historii życia traszek górskich pochodzącej z gór i nizin. Wydaje się że cechy te mają wpływ na rozwój traszek. Wpływ temperatury otoczenia na szybkość rozwoju jest już chyba wystarczająco udokumentowany u zwierząt zmiennocieplnych. Ciekawsze może jednak być interakcja pomiędzy wielkością jaj a szybkością rozwoju i czy wielkość jaj i ich liczba jest adaptacją do lokalnego środowiska (góry, niziny). Procedury proponowane w tym eksperymencie nie pozwolą jednak jednoznacznie odpowiedzieć na to pytanie. Poza tym procedury te są dość mocno zagmatwane i przynajmniej dla mnie mało zrozumiałe. Zbyt mało informacji zostało przedstawione odnośnie w jaki sposób jaja traszek będą zbierane i „hodowane”, znów te informacje co są nie są przeze mnie do ogarnięcia. Nie wiadomo do końca jak wielkie próby będą pobierane co 12 godzin, czy mają się one jakoś wyróżniać. Czy traszki łapane w terenie będą mierzone, zbierane losowo czy wybierane o takiej bądź różnej samej wielkości. Jeśli np.: traszki górskie są większe to jasne jest że będą składać większe jaja a te z kolei będą się szybciej rozwijać.

Niestety w tej formie wniosek jest nie do przyjęcia. Trzeba by się zastanowić nad sformułowaniem problemu – czy różnice mierzonych cech można wytłumaczyć zmiennością fenotypu czy raczej jest to lokalna adaptacja traszek górskich do panujących w górach warunków.

## **OSTATECZNA WERSJA PROJEKTU**

### **Wpływ temperatury na historie życia traszki górskiej (*Triturus alpestris*) pochodzącej z terenów górskich i nizinnych.**

**Anna Stefanowicz**

**Ewa Rygielska**

#### **Streszczenie**

Traszka górską (*Triturus alpestris*) występuje zarówno na terenach górskich jak i na nizinach. Czas trwania poszczególnych etapów ontogenezy różni się u obu traszek i jest dłuższy u traszki górskiej pochodzącej z terenów górskich. Różnice te wynikają między innymi z różnych warunków termicznych i troficznych obu środowisk.

Chcemy sprawdzić czy na skutek zmiany temperatury wody, w której umieścimy traszki, dojdzie do podobnych zmian czasu rozwoju jaj i czasu trwania okresu larwalnego u traszek pochodzących z obu terenów. Interesuje nas, czy siła i kierunki tych zmian będą identyczne, niezależnie od miejsca pochodzenia traszek.

Przewidujemy również, że traszki pochodzące z różnych terenów będą różniły się ilością i wielkością składanych jaj. Chcemy sprawdzić czy traszka góraska pochodząca z terenów górskich, ze względu na trudniejsze bardziej surowy klimat, złoży mniejszą liczbę większych jaj, co zwiększyłoby szansę przeżycia potomstwa.

## **Wstęp**

Traszka góraska ma bardzo szeroki zakres występowania. Można ją spotkać na terenie całej Europy począwszy od obszarów płozonych na wysokości poziomu morza, skończywszy na obszarach znajdujących się na wysokości 2.5 tys m n.p.m. (Alpy) (Juszczyk 1987).

W Polsce gatunek ten występuje pospolicie w Karpatach, Sudetach, na Pogórzu Karpackim i Sudeckim oraz w górach Świętokrzyskich. Na terenach nizinnych można ją spotkać w okolicach Zielonej Góry i Wrocławia (Juszczyk 1987).

Traszka góraska charakteryzuje się złożonym cyklem życiowym. Dorosłe osobniki żyją na lądzie. Wczesną wiosną wchodzi do zbiorników wodnych gdzie odbywają gody. Samice składają około 200 jaj przez okres 1 - 2 miesięcy zawierając je pojedynczo w liście roślin wodnych. Po kilku dniach z jaj wylęgają się larwy odżywiające się zooplanktonem. Po okresie kilku miesięcy następuje przeobrażenie larw w osobniki dorosłe, które po kilku latach osiągają dojrzałość płciową (Juszczyk 1987). Zaobserwowano, że poszczególne etapy rozwoju różnią się czasem długością u traszek pochodzących z terenów górskich i tych pochodzących z terenów nizinnych (Pabijan, informacja ustna). Czas od wyklucia do przeobrażenia się larwy w osobnika dorosłego waha się w granicach 3 - 4 miesięcy i jest dłuższy na terenach górskich, natomiast osiągnięcie dojrzałości płciowej przez osobnika dorosłego następuje po okresie dwóch lat na terenach nizinnych i po około 5-7 latach na terenach górskich (Pabijan, informacja ustna).

Można by się spodziewać, że u traszek pochodzących z obu terenów różna będzie liczba i wielkość składanych jaj. Przypuszczenie to można uzasadniać powołując się na wyniki badań prowadzonych na innych zwierzętach u których wykryto związek pomiędzy liczbą i wielkością jaj a np. temperaturą czy długością trwania zimy (Cytat). Zwierzęta w trudniejszych warunkach często składały mniejszą liczbę ale lepiej zaopatrzonych (większych) jaj niż zwierzęta będące w warunkach lepszych. Dzieje się tak prawdopodobnie dlatego, że potomstwo wyklute z jaj lepiej zaopatrzonych ma większe szanse przeżycia w warunkach trudnych.

## **Cel projektu**

Hipoteza badawcza: Celem projektu będzie zbadanie normy reakcji traszek górskich pochodzących z różnych obszarów (góry i niziny) umieszczonych w tych samych warunkach termicznych. Badania te pozwolą nam na stwierdzenie czy doszło do adaptacji do lokalnych warunków środowiska.

Zgodnie z tą hipotezą traszki pochodzące z terenów górskich złożą mniejszą liczbę, za to większych jaj niż traszki z terenów nizinnych. Czas rozwoju jaj i czas trwania okresu larwalnego będą dłuższe w niższej temperaturze niż w wyższej u traszek z obu terenów, co wynika z reguły Van't Hoffa mówiącej o tym jak szybko rośnie tempo procesów fizjologicznych ze wzrostem temperatury o 10°C. Przewidujemy, że czas trwania poszczególnych etapów ontogenezy u osobników z terenów górskich będzie krótszy niż u osobników z terenów nizinnych. Taki wynik świadczyłby o adaptacji do warunków środowiska oraz o tym, że tempo przebiegania poszczególnych etapów ontogenezy jest związane z wielkością jaj a co za tym idzie z ilością materiałów zapasowych w nich zawartych. Jeżeli czas trwania poszczególnych etapów ontogenezy dla traszki z terenów górskich będzie krótszy niż u traszki z terenów nizinnych w niskiej temperaturze, a dłuższy w wyższej to świadczyć to będzie o adaptacji do warunków środowiska i braku związku pomiędzy wielkością jaj i czasem ich rozwoju.

O braku adaptacji do poszczególnych warunków środowiska świadczyłby brak różnic w czasie trwania ontogenezy u traszek z obu terenów eksponowanych na te same temperatury.

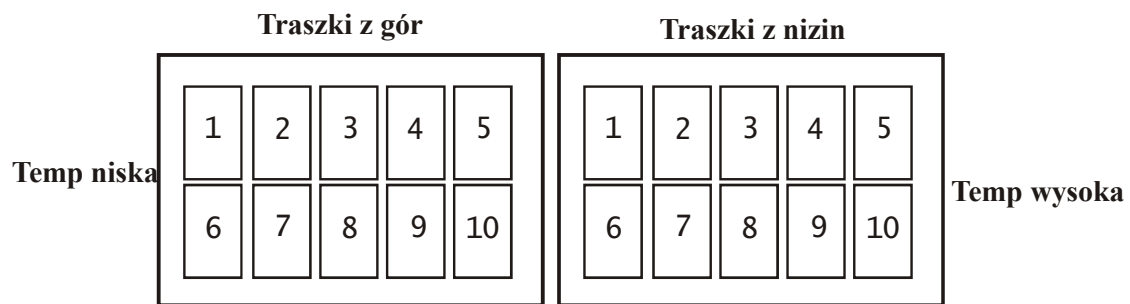
## **Materiały i metody**

Odłowimy 20 ciężarnych (można dotykami wyczuć jaja w ciele samicy) samic traszki, z których 10 będzie pochodziło z 5 zbiorników na terenie Karpat, a 10 z 5 zbiorników na terenie nizinnym w okolicach Zielonej Góry i Wrocławia (z każdego ze zbiorników zostaną odłowione po 2 traszki). Odłowione traszki z obu terenów będą porównywalnej wielkości. Tak mała liczba odłowionych traszek będzie wynikała z tego, że gatunek ten jest objęty ochroną. Każdą samicę traszki umieścimy oddzielnie (do czasu zakończenia składania jaj) w 30 litrowym akwarium (Rys.1) w wodzie o temperaturze odpowiadającej średniej temperaturze wody z trzech zbiorników znajdujących się na terenie, z którego pochodzi dana traszka (należy zaznaczyć, że wybrane zostaną zbiorniki o maksymalnie zbliżonej wielkości i temperaturze wody). Temperaturę taką uzyskamy wstawiając akwaria z traszkami do 2 łaźni wodnych, w których odpowiednia temperatura utrzymywana będzie za pomocą termostatów. W każdym akwarium umieścimy rośliny wodne z gatunku *Mentha aquatica*, aby traszki mogły składać na nich jaja. Traszki karmione będą owadami. Każda traszka, będzie dostawała pokarm w nadmiarze, aby wyeliminować wpływ pokarmu na wielkość i liczbę składanych jaj.

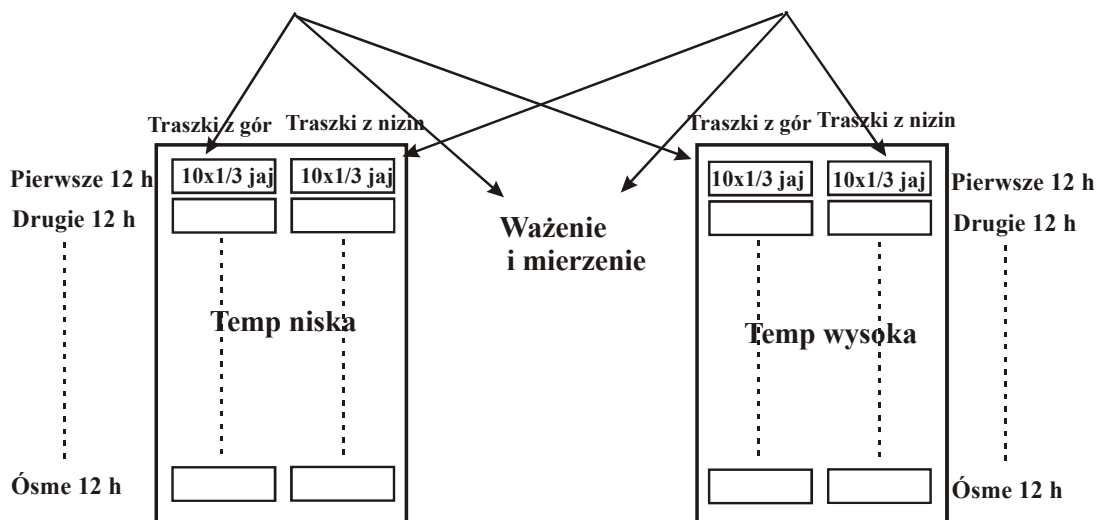
Podczas pierwszej części okresu składania jaj przez traszki (około 8 dni) jaja będziemy na bieżąco usuwać z akwariów w odstępach 12 godzinnych (po uzyskaniu odpowiedniej liczby jaj będziemy kolejne odławiać jedynie w celu uzyskania całkowitej liczby jaj zniesionych przez każdą z samic). I tak po upływie pierwszych 12 godzin jaja pochodzące od każdej traszki w losowy sposób będziemy dzielić na 3 równe części (Rys. 1): pierwszą część jaj zważymy i zmierzmy (po usunięciu galaretowatej otoczki), kolejne dwie części będziemy umieszczać w 2 akwariach (jedno akwarium z wodą o niskiej temperaturze - odpowiadającej średniej temperaturze wody z 5 zbiorników górskich, drugie akwarium z wodą o wysokiej temperaturze - odpowiadającej średniej temperaturze wody z 5 zbiorników nizinnych) w taki sposób, aby jaja traszek pochodzących z obu terenów były eksponowane na obie temperatury. Otrzymamy w ten sposób 4 grupy eksperymentalne: jaja traszki górskiej pochodzącej z terenów górskich (Tgg) eksponowane na niską temperaturę, jaja Tgg eksponowane na wysoką temperaturę, jaja traszki górskiej pochodzącej z terenów nizinnych (Tgn) eksponowane na niską temperaturę i jaja Tgn eksponowane na wysoką temperaturę. Po kolejnych 12 h znów użyjemy kolejnych 2 akwariów dla traszek z każdego z terenów i zastosujemy podobny podział jaj na 3 części. Tak będziemy postępować aż do momentu uzyskania w każdym wariancie 15 jaj od każdej samicy, czyli po 150 jaj dla każdej z 4 grup eksperymentalnych. Akwaria z jajami traszek w celu zapewnienia odpowiedniej temperatury umieszczać będziemy w 2 łaźniach wodnych.

Pozwoli nam to zbadać wpływ temperatury na czas rozwoju jaj oraz długość okresu larwalnego u tych zwierząt. Dodatkowo możemy zmierzyć wielkość larwy w momencie wyklucia oraz wielkość larwy w momencie przeobrażenia (za ten moment uznajemy wykształcenie 5 palców na wszystkich kończynach). Dwunastogodzinne odstępy w pobieraniu jaj zostały wybrane jako optymalne. Pobieranie jaj w mniejszych odstępach czasu byłoby kłopotliwe (również dlatego, że znacznie zwiększyłyby liczbę używanych akwariów), natomiast pobieranie jaj w większych odstępach czasowych utrudniałoby określenie czasu, w którym jaja zostały złożone.

### Akwaria z ciężarnymi traszkami



Po każdych 12 h po 1/3 jaj od każdej z samic przenoszone jest:



Rys. 1

### Przewidywane wyniki

Przewidujemy, że Tgg będzie składała mniejszą liczbę jaj o większych rozmiarach niż Tgn. Związane to może być z trudniejszymi warunkami termicznymi, troficznymi i krótszym sezonem wegetacyjnym

środowiskach górskich. W tej sytuacji złożenie mniejszej liczby jaj, ale za to lepiej zaopatrzonych w substancje odżywcze zwiększać może szansę przeżycia potomstwa.

Przewidujemy również, że jaja Tgg będą rozwijały się szybciej niż jaja Tgn zarówno w niskiej jak i wysokiej temperaturze. Mogłoby to być związane z tym, że są one większe i lepiej zaopatrzone w materiały zapasowe. Przewidujemy też, że zarodki, które wyklują się z jaj Tgg będą większe w obu temperaturach niż zarodki wykluwające się z jaj Tgn, co z kolei może wpłynąć na długość okresu larwalnego.

Czas rozwoju jaj i czas trwania okresu larwalnego będą dłuższe w niższej temperaturze niż w wyższej u traszek z obu terenów, co wynika z reguły Van't Hoffa mówiącej o tym jak szybko rośnie tempo procesów fizjologicznych ze wzrostem temperatury o 10°C. Przewidujemy, że czas trwania poszczególnych etapów ontogenezy u osobników z terenów górskich będzie krótszy niż u osobników z terenów nizinnych. Taki wynik świadczyłby o adaptacji do warunków środowiska oraz o tym, że tempo przebiegania poszczególnych etapów ontogenezy jest związane z wielkością jaj a co za tym idzie z ilością materiałów zapasowych w nich zawartych.

### **Analizy statystyczne**

W celu określenia różnic w liczebności i wielkości jaj Tgg i Tgn zastosujemy hierarchiczną analizę wariancji z dwoma czynnikami: samica i pochodzenie (góry, niziny), gdzie czynnik samica jest zagnieżdżony w pochodzeniu. Testowane będą wszystkie określone przez model czynniki, najbardziej interesujący będzie wynik istotności czynnika pochodzenie.

Za pomocą dwukierunkowej analizy wariancji sprawdzimy czy występują różnice w czasie rozwoju jaj oraz w długości okresu larwalnego u Tgg i Tgn hodowanych w różnych temperaturach. Analiza ta będzie przeprowadzona na średnich długościach czasu rozwoju jaj i średnich długościach czasu potrzebnego do przeobrażenia (liczonych dla prób pobieranych co 12 godzin).

Do tego aby sprawdzić czy różnice w czasie trwania poszczególnych etapów historii życia są tylko fenotypowe lub związane z efektem matczynym, czy raczej są to różnice na poziomie genetycznym będą potrzebne dalsze długoletnie badania prowadzone na pokoleniu F2 wyhodowanym w laboratorium. Na podstawie badań zaplanowanych przez nas można będzie podjąć decyzję czy warto angażować się w badania trwające kilka lat czy też nie.

Wyniki nasze zamierzamy przedstawić na konferencji międzynarodowej oraz opublikować w anglojęzycznym czasopiśmie.

### **Literatura:**

Juszczak, W. *Plazy i Gady Polski*, PWN Warszawa, 1987

### **Koszty:**

#### **Sprzęt:**

akwarium 30 l - 20 szt.	1600 zł
akwarium 15 l - 32 szt.	700 zł
akwarium 100 l - 4 szt.	320 zł
waga	1500 zł
napowietrzacze - 52 szt.	2000 zł
termostaty i chłodnice -4 szt.	8000 zł
przyrządy miernicze	300 zł

#### **Materiały:**

pokarm dla zwierząt	2000 zł
materiały biurowe	300 zł

#### **Delegacje i Honoraria:**

wyjazdy terenowe	800 zł
honoraria dla autorów	4000 zł
wyjazdy na konferencje	7000 zł
koszt publikacji	1000 zł

SUMA 29600 zł

## Wpływ obecności wilków na stopień obciążenia pasożytami u saren

Zbigniew Boratyński

Lukasz Jasnos

### Streszczenie

Teza że drapieżniki poprzez selekcyjne działanie na swoje ofiary przyczyniają się do utrzymywania stale wysokiej jakości genetycznej populacji tych ofiar jest od dawna znana i akceptowana. Logiczną konsekwencją tej myśli wydaje się być stwierdzenie że drapieżniki eliminując osobniki najsłabsze wpływają na stopień zapasożycenia swoich ofiar. Przez to mogą regulować zarówno skład gatunkowy jaki i liczebność pasożytów. Stawiamy hipotezę że obecność wilków ma wpływ na liczebność i skład gatunkowy pasożytów saren, ich naturalnych ofiar. Aby zweryfikować tę hipotezę proponujemy przeprowadzenie badań polegających na sprawdzeniu liczby gatunków i liczby jaj pasożytów w odchodach saren pochodzących terenów występowania i niewystępowania wilków. Oczekujemy że przeprowadzone analizy wykażą istotne różnice pomiędzy zbiorami ze względu na czynnik obecności lub brak wilków. Uważamy że dla niezależności pobierania prób istotne jest aby badania przeprowadzić w dużych kompleksach leśnych. Kompleksami tymi będą: Białowiecki PN, Bieszczadzki PN, Świętokrzyski PN, Beskid Sądecki, Beskid Śląski i Puszcza Niepołomnicka. Wyniki tych badań przyczynią się do zrozumienia interakcji w układzie: drapieżnik-ofiara-pasożyt ofiary, a także rzuca nowe światło na znaczenie dużych drapieżników we współczesnej gospodarce leśnej.

### Opis projektu badawczego

Wpływ drapieżników na populacje ofiar oraz interakcje zachodzące pomiędzy pasożytami i ich żywicielami są stosunkowo dobrze poznane. Pytanie, jak przebiega interakcja pomiędzy drapieżnikiem a pasożytami jego ofiary pozostaje wciąż otwarte. Znanych jest wiele przykładów negatywnego wpływu pasożytów na dostosowanie osobników w populacji (Begon i wsp. 1999). Osobniki o gorszej kondycji ulegają w większym stopniu zapasożyceniu i gorzej znoszą ten stan od osobników o lepszej kondycji. Obecność drapieżników w populacji eliminuje osobniki najsłabsze (o najgorszej kondycji), co również jest potwierdzone przez liczne badania z zakresu ekologii populacji (Errington 1946). Brak jest w literaturze danych na temat, czy drapieżniki mogą w jakiś sposób zmieniać skład gatunkowy i ilość pasożytów w populacji swoich ofiar. Wydaje się to być problemem niezwykle istotnym dla otrzymania pełnego obrazu zależności: drapieżnik-ofiara-pasożyt ofiary. Problem ten ma nie tylko znaczenie teoretyczne, ale jego rozwiązanie i wnioski mogą być wykorzystane praktycznie do utrzymania wysokiej kondycji populacji pozbawionych drapieżników. W niniejszym eksperymencie proponujemy porównanie stopnia zapasożycenia populacji saren na terenach występowania wilków i na terenach pozbawionych tego drapieżnika. Pozwoli to nam przetestować hipotezę o wpływie drapieżników na skład fauny pasożytów ich ofiar. Badania zamierzamy przeprowadzić w sześciu dużych zbiorowiskach leśnych: Bieszczadach, Beskidzie Sądeckim i Białowieży jako środowiskach występowania wilków oraz Puszczy Niepołomickiej, Górach Świętokrzyskich i Beskidzie Śląskim jako obszarach pozbawionych wilków. Porównywać będziemy liczbę jaj i liczbę gatunków pasożytów, znajdujących w odchodach saren. Eksperyment ten jest prosty do wykonania, a jego wyniki dadzą jednoznaczną odpowiedź na postawiony w tytule problem. Sądzymy, że ważność tematu pozwoli nam otrzymać zezwolenia na prowadzenie badań zarówno w parkach narodowych jak i pozostałych wybranych przez nas obszarach leśnych.

### Istniejący stan wiedzy w zakresie tematu badań

Występujące w Polsce populacje saren narażone są na ataki ze strony jedynie kilku naturalnych drapieżników, w tym wilka, rysia i niedzwiedzia. Występują one jedynie w nielicznych zgrupowaniach leśnych i coraz częstsza jest sytuacja, że jedynym czynnikiem regulującym liczebność saren są odstrzały prowadzone przez myśliwych. W takich warunkach nie ma kierunkowej presji doboru na utrzymanie wysokiej średniej kondycji populacji gdyż odstrzały prowadzone są w dużej mierze losowo albo eliminują zdrowe byki. W zbiorowiskach leśnych, w których wilki i sarny współwystępują, sarny stanowią znaczący procent w diecie tych drapieżników. Może to być czynnikiem zmieniającym liczebność i kondycję saren.

Dostosowanie osobnika jest miarą udziału jego genotypu w przyszłej populacji (sukcesu rozrodczego przez całe życie). Podatność i oporność na pasożyty wewnętrzne, jak również stopień wrażliwości na toksyny przez te pasożyty produkowane są miarą jakości układu odpornościowego osobników (ich kondycji). Wiadome jest, że pasożyty mogą w znacznym stopniu obniżać dostosowanie osobników, a przez to wpływać na to które osobniki będą eliminowane przez drapieżniki. Przyjmuje się również, że drapieżniki eliminują z populacji głównie osobniki młode i najsłabsze. Wydaje nam się, że obciążenie pasożytami może być na tyle dotkliwie dla saren, że uczyni je bardziej podatnymi na atak ze strony wilka niż osobniki nie obciążone, bądź w małym stopniu obciążone pasożytami. Wilki wybierając najsłabsze sarny usuwają z populacji najgorsze fenotypy, dzięki czemu mogą być czynnikiem selekcyjnym. Brak doboru ze strony drapieżników może utrwalić w populacji allele, które przy obecności drapieżnika byłyby natychmiastowo eliminowane. W populacjach pozbawionych wilków możliwe jest więc przeżywanie i reprodukcja saren bardziej podatnych na zapasożycenie, a więc



utrwalanie niższej odporności immunologicznej (gorszej kondycji). Wynikiem tego będzie większa ferkwencja i liczba gatunków pasożytów w tych populacjach. Przedstawiany przez nas plan badań da jednoznaczną odpowiedź na pytanie czy rzeczywiście populacje saren pozbawione presji ze strony wilków są bardziej zapasożyczone, a więc czy obniża się ich jakość immunologiczna.

### **Metodyka badań i analiza wyników**

Do eksperymentu wybrano sześć stanowisk. Trzy z nich: Bieszczadzki Park Narodowy, Białowiecki Park Narodowy i Beskid Sądecki znajdują się w obszarze występowania wilków, a w trzech kolejnych: Beskidzie Śląskim, Puszczy Niepołomickiej i Świętokrzyskim Parku Narodowym wilki nie występują. Z obszarów tych będą zbierane świeże odchody saren, które będą natychmiast zamrażane. Następnie z odchodów tych będą zliczane: liczba jaj pasożytów oraz liczba gatunków pasożytów na jednostkę objętości odchodów. Każdorazowo badana będzie taka sama objętość odchodów. Schemat pobierania prób odchodów będzie następujący: wybrane zbiorowiska leśne będą odwiedzane w losowej kolejności. Codziennie zbierane będą odchody z innego zbiorowiska (Bieszczady, Beskid Sądecki...). Czas zebrania prób ze wszystkich sześciu zbiorowisk oceniamy na osiem kolejnych dni (dwa dni przewidujemy poświęcić na przejazdy). Próby zbierane będą przez dwa lata, osiem razy w roku: sześć razy w ciągu ciepłych miesięcy (maj-październik) i dwa razy w ciągu zimy (grudzień i luty). Na każdym stanowisku zostaną wyznaczone dwie równoległe linie oddalone od siebie co najmniej o 3 km. W każdej linii wyznaczone zostaną po 4 punkty oddalone od siebie o 3 km. Z każdego punktu wyruszy po jednej osobie w tym samym kierunku (wszystkie osoby będą przemieszczać się równoległe do siebie). Kierunek poszukiwań będzie przeciwny w obu liniach i wyznaczony w ten sposób, aby oddalać się od obu linii. Każdy będzie przemieszczał się tak długo, aż znajdzie pierwszą próbkę świeżych odchodów, saren, która zostanie umieszczona w zamrażarce samochodowej.

W celu zaznajomienia się z metodami oznaczania liczby jaj i gatunków znajdujących pasożytów przed rozpoczęciem badań, ich uczestnicy przejdą kurs zaznajamiający ich z wymaganymi metodami w specjalistycznej placówce - Zakładzie Parazytologii PAN.

Otrzymane wyniki przeanalizujemy statystycznie równoległe na dwóch płaszczyznach: pod kątem liczby gatunków pasożytów i liczebności jaj pasożytów w jednostce objętości odchodów. Analizę przeprowadzimy przy użyciu trójczynnikowej analizy wariancji model I z zagnieżdżeniem (Sokal i Rohlf) wg schematu:  $X = \mu + W + S(W) + C + W * C + e$

gdzie:  $W$  to obecność lub brak wilka ( $W+/W-$ ),  $S$  to typ siedliska zagnieżdżony w  $W$  (trzy poziomy dla  $W+$ : Białowieża, Bieszczady, Beskid Sądecki i trzy dla  $W-$ : Góry Świętokrzyskie, Beskid Śląski, Puszcza Niepołomicka),  $C$  to czas pobrania próby (z szesnastoma poziomami odpowiadającymi okresom maj-październik, grudzień, luty w ciągu dwóch lat),  $e$  to losowe odchylenie pomiaru. Analizę przeprowadzimy przy użyciu pakietu STATISTICA 6.0 dostępnego w rodzimym instytucie. Testowane będą hipotezy dotyczące istotności wszystkich czynników i interakcji zawartych w modelu, choć najbardziej interesująca z punktu widzenia tego projektu jest istotność różnic między zbiorowiskami z i bez wilków.

Sprzęt laboratoryjny potrzebny do przeprowadzenia analiz i zbierania materiału zostanie zakupiony z grantu. Mikroskopy i lupy binokularne potrzebne do oznaczeń pasożytów są dostępne w rodzimym instytucie autorów projektu. Niezbędne jest zaopatrzenie się w zestaw odczynników do analizy jakościowej i ilościowej znajdujących pasożytów. Próby wymagające dłuższego przechowywania będą umieszczane w zamrażarce Zakładu Mikrobiologii Ekologicznej. Samochód konieczny do przemieszczania się pomiędzy zbiorowiskami leśnymi będzie wypożyczony z INoŚ, niezbędne będzie zakupienie zamrażarki samochodowej. W realizacji projektu wezmą udział cztery osoby: autorzy projektu oraz dwóch magistrantów, którzy przy tej okazji zbiorą dane do prac magisterskich.

### **Spodziewane wyniki**

Przewidujemy znaleźć istotne różnice między obszarami z i bez wilków, zarówno w liczbie gatunków pasożytów jak i w liczbie jaj pasożytów osobników pochodzących z tych dwóch typów populacji. Otrzymanie różnicy w liczbie jaj pasożytów potwierdzi naszą hipotezę, mówiącą że na obszarach występowania wilków sarny mają mniej pasożytów i pozwolą z dużym prawdopodobieństwem przypuszczać, że to wilki są przyczyną tego stanu. Znalezienie mniejszej liczby gatunków pasożytów na obszarach występowania wilków skłoni do przypuszczeń, że niektóre z pasożytów w dużym stopniu zmniejszają kondycję saren, przez co na obszarach występowania wilków osobniki takie są eliminowane. Brak różnic w ilości pasożytów nie pozwoli stwierdzić, że wilki nie mają wpływu na kondycję saren. Możliwa jest sytuacja taka, że choć ilość pasożytów nie zmniejsza się przy obecności wilków, to kondycja saren z tych terenów jest lepsza niż saren z taką samą liczbą pasożytów z terenów bez wilków, gdyż wilki mogą selekcionować sarny pod kątem innej cechy niż stopień zapasożyczenia.

Możliwa jest sytuacja, że w jakiejś okolicy z jakiegoś powodu wilki stanowią małe zagrożenie dla saren. Ubezpieczymy się przed taką możliwością przeprowadzając wcześniejszy wywiad w nadleśnictwach interesujących nas obszarów. Możliwa jest też sytuacja, że wykryjemy różnice w zapasożyczeniu, a nie będą one spowodowane obecnością pasożytów, ale położeniem geograficznym, gdyż obszary występowania wilków w

Polsce ograniczają się do terenów wschodnich i trudno tam znaleźć większe obszary leśne, na których nie zaznaczałby się wpływ obecności wilka.

Nasze badania można w łatwy i niekosztowny sposób rozszerzyć o taką samą analizę wpływu wilka na zapasowanie jeleni.

#### Literatura

Errington P. L. 1946. Predation and vertebrate populations. *Quarterly Review of Biology*, 21, 144-177.

Begon M., Mortimer M., Thompson D. 1999. *Ekologia populacji*. PWN

Sokal, Rholf. *Biometry*.

#### Koszty

Odczynniki i sprzęt do analizy	8
Szkolenie w instytucie PAN	8
Zamrażarka samochodowa	
Paliwo i diety na przejazd	
Konferencje (2*krajowe, 2*międzynarodowe)	
Wynagrodzenie	

Suma: 68 tys zł

## RECENZJE

### Adam Łomnicki

#### Recenzja projektu „Wpływ obecności wilków na stopień obciążenia pasożytami u saren”

Do tego projektu mam tylko jedną uwagę merytoryczną: przydatne może być odróżnienie liczby osobników z pasożytami od liczby pasożytów u jednego osobnika. Nawet jeśli nie wiemy czy dane odchody pochodzą od tego samego czy różnych osobników, warto wziąć pod uwagę liczbę lub frakcje odchodów z pasożytem i osobno liczbę pasożytów w poszczególnych odchodach. A przy okazji nie pisać ilość ale liczba pasożytów, chyba że nie dają się policzyć i oceniamy ich ilość na objętość lub ciężar.

A teraz uwagi formalne. Rzeczownik „drapieżnik” nie pisze się przez „rz” ale przez „ż”. Na stronie 2 są powtórzenia informacji, które wcześniej zostały powiedziane. Ten projekt nie może w żaden sposób ani potwierdzić ani obalić hipotezy, że istnieją allele, które determinują odporność i mogą być eliminowane przy braku drapieżnika. W kontekście tego projektu jest to metafizyka. Nie pisałbym o spodziewanych wynikach, ale o wynikach przewidywanych przez sprawdzaną hipotezę względnie hipotezę alternatywną.

Ale ogólnie projekt podoba mi się.

Ewa Rygielska

#### Recenzja projektu „Wpływ obecności wilków na stopień obciążenia pasożytami u saren”

Odniosłam wrażenie, że pierwszy rozdział pt.: "Opis projektu badawczego, metodyka badań oraz charakterystyka oczekiwanych wyników" jest streszczeniem nie rozumiem w takim razie, po co kolejne streszczenie umieszczone jest na końcu projektu tym bardziej, że treść obu tych tekstów jest bardzo podobna.

Tytuł projektu sugeruje, że badania będą dotyczyły całkowitego zapasowania saren, a nie tylko pasożytów znajdujących się w przewodzie pokarmowym. Wydaje mi się, że na kondycję ofiar mogą wpłynąć również inne pasożyty np.: skórne, obecne w mięśniach, wątrobie, krwi, płucach czy w mózgu. O tych pasożytach niczego się nie dowiadujemy, mimo że niektóre z nich np. bąblowiec w bardzo dużym stopniu mogą wpływać na kondycję swoich ofiar, w związku z tym selekcja może być skierowana właśnie na osobniki nimi zarażone, a nie na osobniki mające pasożyty przewodu pokarmowego. W takiej sytuacji autorom może nie udać się zaobserwować zmniejszenia zapasowania jak również redukcji składu gatunkowego pasożytów na obszarach, na których wilki są obecne.

W rozdziale pt. "Istniejący stan wiedzy w zakresie tematu badań" niewłaściwie zostało użyte słowo "byk" mające określać samca sarny. Samiec sarny to koziół.

Zabrakło mi w tym projekcie badań dotyczących udziału sarny w diecie wilka. Autorzy wprawdzie piszą, że będą pytać o to czy na danym terenie wilki odżywiają się sarnami, ale to chyba jest trochę za mało. Łatwo sobie wyobrazić, że gdy udział sarny w diecie tego drapieżnika będzie znacznie różny na trzech stanowiskach, z których pobierane będą próby, wpływ wilka na populacje ofiar z tych stanowisk też będzie różny.

Brak wyraźnie napisanej hipotezy zerowej.

Kosztorys nie został skończony. Tak naprawdę nie wiem, na jakiej podstawie koszty tego projektu zostały wycenione na kwotę 68 tys zł.

Mimo kilku uchybień opis tego projektu jest klarowny. Badania są starannie zaplanowane i wydają się być możliwe do realizacji. Warto jednak byłoby zastanowić się nad zbadaniem kondycji saren będących na danym terenie w inny sposób tak, aby uwzględnić rzeczywistą kondycję tych zwierząt a nie tylko stopień zapasowania przelotu pokarmowego, w przeciwnym razie obawiam się, że autorzy nie będą mogli odpowiedzieć na zadane przez siebie pytania. Autorzy powinni również poświęcić trochę czasu w celu zbadania jaki jest rzeczywisty udział sarny w diecie wilków na badanym terenie. Po uwzględnieniu tych uwag myślę, że projekt będzie nadawał się do ponownego rozpatrzenia.

### **Maciej Pabijan**

#### **Recenzja projektu „Wpływ obecności wilków na stopień obciążenia pasożytami u saren”**

Praca dotyczy wpływu drapieżnika na stopień zapasowania populacji ofiary. W tym celu zostanie porównana liczba gatunków pasożytów i liczebność jaj wszystkich pasożytów w odchodach saren z terenów zamieszkałych lub niezamieszkałych przez wilki.

Autorzy zakładają m.in., że liczba jaj i liczba gatunków pasożytów w odchodach saren jest odpowiednią miarą zapasowania i pośrednio świadczy o dostosowaniu saren.

Liczba gatunków pasożytów nie jest dobrą miarą obciążenia pasożytniczego. Boratyński i Jasnos, licząc gatunki pasożytów w odchodach saren, zakładają, że populacje będą się różnić pod tym względem. Inaczej mówiąc, gatunek X pasożyta będzie występował w populacji W+ lecz nie w W- . Można wyobrazić sobie sytuację, gdy pasożyt mniej zjadliwy produkuje więcej jaj niż gatunek pasożyta bardziej zjadliwego. Wtedy odchody silnej sarny będą miały wysoką liczbę jaj pasożytów, a wilk jej nie upoluje. Jeżeli taka sytuacja będzie miała miejsce w populacji W+, to stopień zapasowania będzie sztucznie zawyżony i test: (1) nie wykryje różnic między populacjami W+/W- lub (2) populacja W+ będzie silniej zapasowana. Jeżeli zapasowanie w populacji W- będzie sztucznie zawyżone to potwierdzi się hipoteza Autorów, że na obszarach gdzie występują wilki sarny mają mniej pasożytów. Nie będzie to wywołane jednak obecnością wilków (drapieżnictwem), lecz właściwościami pasożytów.

Z powyższego wywodu wnioskuję, że układ eksperymentalny, a ściślej miary zapasowania, są nieodpowiednie i dadzą odpowiedź dwuznaczną na postawione pytanie. W związku z tym nie przyznaję Autorom grantu KBN.

Dodatkowe uwagi:

Przypuszczam, że zagęszczenie populacji ofiary ma znaczny wpływ na liczebność ich pasożytów. Koła łowieckie i leśnictwa na pewno mają informacje na ten temat, więc stosunkowo łatwo można wprowadzić odpowiednią poprawkę.

Autorzy biorą pod uwagę jednak tylko pasożyty układu pokarmowego – a przecież pasożyty można znaleźć w układzie oddechowym, mięśniowym itd. Tytuł należałoby zmienić na

„Wpływ obecności wilków na stopień obciążenia pasożytami **układu pokarmowego** u saren”.

Prezentacja, choć na ogół poprawna i klarowna, miejscami jest nieco zawiła. Drobne błędy zaznaczono w tekście.

## OSTATECZNA WERSJA PROJEKTU

# WPLYW OBECNOŚCI WILKÓW NA STOPIEŃ OBCIĄŻENIA PASOŻYTAMI UKŁADU POKARMOWEGO U SAREN

Zbyszek Boratyński  
Łukasz Jasnos

### Streszczenie

Teza, że drapieżniki poprzez selekcyjne działanie na swoje ofiary przyczyniają się do utrzymywania stale wysokiej jakości genetycznej populacji tych ofiar jest od dawna znana i akceptowana. Logiczną konsekwencją tej myśli wydaje się być stwierdzenie, że drapieżniki eliminując osobniki najsłabsze wpływają na stopień zapasożycenia swoich ofiar. Przez to mogą regulować zarówno skład gatunkowy jak i liczebność pasożytów. Stawiamy hipotezę, że obecność wilków ma wpływ na liczebność i skład gatunkowy pasożytów saren, ich naturalnych ofiar. Aby zweryfikować tę hipotezę proponujemy przeprowadzenie badań polegających na (a) sprawdzeniu liczby gatunków, (b) liczby jaj pasożytów w odchodach oraz (c) frekwencję odchodów samy z pasożytami pochodzących z terenów występowania i niewystępowania wilków. Oczekujemy, że przeprowadzone analizy wykażą istotne różnice pomiędzy zbiorami ze względu na czynnik obecności lub brak wilków. Uważamy, że dla niezależności pobierania prób istotne jest, aby badania przeprowadzić w dużych kompleksach leśnych. Kompleksami tymi będą: Białowiecki PN, Bieszczadzki PN, Świętokrzyski PN, Beskid Sądecki, Beskid Śląski i Puszcza Niepołomska. Wyniki tych badań przyczynią się do zrozumienia interakcji w układzie: drapieżnik – ofiara – pasożyt ofiary, a także rzuci nowe światło na znaczenie dużych drapieżników we współczesnej gospodarce leśnej.

### Opis projektu badawczego, metodyka badań oraz charakterystyka oczekiwanych wyników

Wpływ drapieżników na populacje ofiar oraz interakcje zachodzące pomiędzy pasożytami i ich żywicielami są stosunkowo dobrze poznane. Pytanie, jak przebiega interakcja pomiędzy drapieżnikiem a pasożytami jego ofiary pozostaje wciąż otwarte. Znanych jest wiele przykładów negatywnego wpływu pasożytów na dostosowanie osobników w populacji (Begon i wsp. 1999). Osobniki o gorszej kondycji ulegają w większym stopniu zapasożyceniu i gorzej znoszą ten stan od osobników o lepszej kondycji. Obecność drapieżników w populacji eliminuje osobniki najsłabsze (o najgorszej kondycji), co również jest potwierdzone przez liczne badania z zakresu ekologii populacji (Errington 1946). Brak jest w literaturze danych na temat, czy drapieżniki mogą w jakiś sposób zmieniać skład gatunkowy i liczbę pasożytów w populacji swoich ofiar. Wydaje się to być problemem niezwykle istotnym dla otrzymania pełnego obrazu zależności: drapieżnik – ofiara – pasożyt ofiary. Problem ten ma nie tylko znaczenie teoretyczne, ale jego rozwiązanie i wnioski mogą być wykorzystane praktycznie do utrzymania wysokiej kondycji populacji pozbawionych drapieżników. W niniejszym eksperymencie proponujemy porównanie stopnia zapasożycenia populacji saren na terenach występowania wilków i na terenach pozbawionych tego drapieżnika. Pozwoli to nam sprawdzić hipotezę o wpływie drapieżników na skład fauny pasożytów ich ofiar. Badania zamierzamy przeprowadzić w trzech dużych zbiorowiskach leśnych pozbawionych wilków i trzech gdzie wilki są obecne. Eksperyment ten jest prosty do wykonania, a jego wyniki dadzą jednoznaczną odpowiedź na postawiony w tytule problem. Sądzymy, że ważność tematu pozwoli nam otrzymać zezwolenia na prowadzenie badań zarówno w parkach narodowych jak i pozostałych wybranych przez nas obszarach leśnych.

### Istniejący stan wiedzy w zakresie tematu badań

Występujące w Polsce populacje saren narażone są na ataki ze strony jedynie kilku naturalnych drapieżników, w tym wilka, rysia i niedźwiedzia. Drapieżniki te występują jedynie w nielicznych zgrupowaniach leśnych i coraz częstsza jest sytuacja, że jedynym czynnikiem regulującym liczebność saren są odstrzały prowadzone przez myśliwych. W takich warunkach nie ma kierunkowej presji doboru na utrzymanie wysokiej średniej kondycji populacji gdyż odstrzały prowadzone są w dużej mierze losowo albo eliminują zdrowe kozły. W zbiorowiskach leśnych, w których wilki i samy współwystępują, samy stanowią znaczący procent w diecie tych drapieżników. Może to być czynnikiem zmieniającym liczebność i kondycję saren.

Dostosowanie osobnika jest miarą udziału jego genotypu w przyszłej populacji (sukcesu rozrodczego przez całe życie). Podatność i oporność na pasożyty wewnętrzne, jak również stopień wrażliwości na toksyny przez te pasożyty produkowane są miarą jakości układu odpornościowego osobników (ich kondycji). Wiadome jest, że pasożyty mogą w znacznym stopniu obniżać dostosowanie osobników, a przez to wpływać na to, które osobniki będą eliminowane przez drapieżniki. Przyjmuje się również, że drapieżniki eliminują z populacji głównie osobniki młode i najsłabsze. Wydaje nam się, że obciążenie pasożytami może być na tyle dotkliwie dla saren, że uczyni je bardziej podatnymi na atak ze strony wilka niż osobniki nieobciążone, bądź w małym stopniu obciążone pasożytami. Wilki wybierając najsłabsze samy usuwają z populacji najgorsze fenotypy. Brak doboru

ze strony drapieżników może prowadzić do występowania w populacji genotypów, które przy obecności drapieżnika byłyby natychmiastowo eliminowane.

W populacjach pozbawionych wilków możliwe jest, więc przeżywanie i reprodukcja saren bardziej podatnych na zapasożycenie, a więc utrwalanie niższej odporności immunologicznej (gorszej kondycji). Wynikiem tego będzie większa frekwencja i liczba gatunków pasożytów w tych populacjach. Przedstawiany przez nas plan badań da jednoznaczną odpowiedź na pytanie czy rzeczywiście populacje saren pozbawione presji ze strony wilków są bardziej zapasożyczone, a więc czy obniża się ich jakość immunologiczna.

### **Metodyka badań i analiza wyników**

Wybór miejsc badań poprzedzony zostanie wywiadami w: Państwowej Dyrekcji Lasów, lokalnych Kołach Łowieckich oraz innych placówkach naukowo badawczych monitorujących stan populacji sarny i wilka. Celem wywiadów będzie sprawdzenie: zagęszczenia populacji obu gatunków i udziału sarny w diecie wilka. Do eksperymentu wybrane zostanie sześć stanowisk spełniające następujące kryteria: zbliżone zagęszczenia populacji sarny i wilka oraz zbliżony udział sarny w diecie wilka. Wstępnie proponujemy następujące lokalizacje: Bieszczadzki Park Narodowy, Białowiecki Park Narodowy i Beskid Sąddecki znajdujące się w obszarze występowania wilków, oraz: Beskid Śląski, Puszcza Niepołomska i Świętokrzyski Park Narodowy gdzie wilki nie występują. Z obszarów tych będą zbierane świeże odchody saren, które będą natychmiast zamrażane. Następnie z odchodów tych będą zliczane: liczba jaj pasożytów, liczba gatunków pasożytów na jednostkę objętości odchodów oraz proporcje osobników zarażonych pasożytami jelitowymi. Każdorazowo badana będzie taka sama objętość odchodów. Schemat pobierania prób odchodów będzie następujący: wybrane zbiorowiska leśne będą odwiedzane w losowej kolejności. Codziennie zbierane będą odchody z innego zbiorowiska (Bieszczady, Beskid Sąddecki...). Czas zebrania prób ze wszystkich sześciu zbiorowisk oceniamy na osiem kolejnych dni (dwa dni przewidujemy poświęcić na przejazdy). Próby zbierane będą przez dwa lata, osiem razy w roku: sześć razy w ciągu ciepłych miesięcy (maj-październik) i dwa razy w ciągu zimy (grudzień i luty). Na każdym stanowisku zostaną wyznaczone dwie równoległe linie oddalone od siebie, co najmniej o 3 km. W każdej linii wyznaczone zostaną po 4 punkty oddalone od siebie o 3 km. Z każdego punktu wyruszy po jednej osobie w tym samym kierunku (wszystkie osoby będą przemieszczać się równoległe do siebie). Kierunek poszukiwań będzie przeciwny w obu liniach i wyznaczony w ten sposób, aby oddalać się od obu linii. Każdy będzie przemieszczał się tak długo, aż znajdzie pierwszą próbkę świeżych odchodów, saren, która zostanie umieszczona w zamrażarce samochodowej. Planujemy zebrać w sumie 768 porcji odchodów (z 6 stanowisk po 8 porcji 8 razy w roku przez 2 lata).

W celu zaznajomienia się z metodami oznaczania liczby jaj i gatunków znajdujących pasożytów przed rozpoczęciem badań, ich uczestnicy przejdą kurs zaznajamiający ich z metodami w specjalistycznej placówce - Zakładzie Parazytologii PAN.

Otrzymane wyniki przeanalizujemy statystycznie równoległe na trzech płaszczyznach: pod kątem (a) liczby gatunków pasożytów, (b) liczebności jaj pasożytów w jednostce objętości odchodów i (c) frekwencji odchodów zapasożyczonych. Analizę przeprowadzimy przy użyciu trójczynnikowej analizy wariancji model I z zagnieżdżeniem (Sokal i Rohlf) wg schematu:  $X = \mu + W + S(W) + C + W * C + e$ , gdzie:  $W$  to obecność lub brak wilka ( $W+/W-$ ),  $S$  to typ siedliska zagnieżdżony w  $W$  (trzy poziomy dla  $W+$ : Białowieża, Bieszczady, Beskid Sąddecki i trzy dla  $W-$ : Góry Świętokrzyskie, Beskid Śląski, Puszcza Niepołomska),  $C$  to czas pobrania próby (z szesnastoma poziomami odpowiadającymi okresom maj-październik i dwoma dla grudnia i lutego w ciągu dwóch lat),  $e$  to losowe odchylenie pomiaru. Analizę przeprowadzimy przy użyciu pakietu STATISTICA 6.0 dostępnego w rodzimym instytucie. Testowane będą hipotezy dotyczące istotności wszystkich czynników i interakcji zawartych w modelu, choć najbardziej interesująca z punktu widzenia tego projektu jest istotność różnic między stanowiskami z i bez wilków.

Sprzęt laboratoryjny potrzebny do przeprowadzenia analiz i zbierania materiału zostanie zakupiony, z grantu. Mikroskopy i lupy binokularne potrzebne do oznaczeń pasożytów są dostępne w rodzimym instytucie autorów projektu. Niezbędne jest zaopatrzenie się w zestaw odczynników do analizy jakościowej i ilościowej znajdujących pasożytów. Próby wymagające dłuższego przechowywania będą umieszczane w zamrażarce Zakładu Mikrobiologii Ekologicznej. Samochód konieczny do przemieszczania się pomiędzy zbiorowiskami leśnymi będzie wypożyczany z INoŚ. Niezbędne będzie zakupienie zamrażarki samochodowej. W realizacji projektu wezmą udział cztery osoby: autorzy projektu oraz dwóch magistrantów, którzy przy tej okazji zbiorą dane do prac magisterskich.

### **Przewidywane wyniki**

Przewidujemy znaleźć istotne różnice między obszarami z i bez wilków, zarówno w liczbie gatunków pasożytów, liczbie jaj pasożytów osobników oraz w frekwencji osobników zapasożyczonych pochodzących z tych dwóch typów populacji. Otrzymanie różnicy w liczbie jaj pasożytów potwierdzi naszą hipotezę, mówiącą, że na obszarach występowania wilków sarny mają mniej pasożytów i pozwolą z dużym prawdopodobieństwem przypuszczać, że to wilki są przyczyną tego stanu. Znalezienie mniejszej liczby gatunków pasożytów na

obszarach występowania wilków skłoni do przypuszczeń, że niektóre z pasożytów w dużym stopniu zmniejszają kondycję saren, przez co na obszarach występowania wilków osobniki takie są eliminowane

Na obszarach występowania wilków możliwe jest zaobserwowanie większej liczby jaj pasożytów. Ta liczba może być spowodowana mniejszą zjadliwością pasożytów. W takim przypadku spodziewamy się znaleźć mniej gatunków pasożytów z tego względu że pasożyty zjadliwe będą eliminowane. Brak różnic w ilości pasożytów nie pozwoli stwierdzić, że wilki nie mają wpływu na kondycję saren. Możliwa jest sytuacja taka, że choć ilość pasożytów nie zmniejsza się przy obecności wilków, to kondycja saren z tych terenów jest lepsza niż saren z taką samą liczbą pasożytów z terenów bez wilków, gdyż wilki mogą selekcjonować sarny pod kątem innej cechy niż stopień zapasożycenia.

Możliwa jest sytuacja, że w jakiejś okolicy z jakiegoś powodu wilki stanowią małe zagrożenie dla saren. Ubezpieczymy się przed taką możliwością przeprowadzając wcześniej wywiady na interesujących nas obszarach. Możliwa jest też sytuacja, że wykryjemy różnice w zapasożyceniu, a nie będą one spowodowane obecnością pasożytów, ale położeniem geograficznym, gdyż obszary występowania wilków w Polsce ograniczają się do terenów wschodnich i trudno tam znaleźć obszary leśne, na których nie zaznaczałby się wpływ obecności wilka.

Nasze badania można w łatwy i niekosztowny sposób rozszerzyć o taką samą analizę wpływu wilka na zapasożycenie jeleni.

### **Literatura**

- Errington P. L. 1946. Predation and vertebrate populations. *Quarterly Review of Biology*, 21, 144-177.  
Begon M., Mortimer M., Thompson D. 1999. *Ekologia populacji*. PWN  
Sokal, Rohlf. *Biometry*.

## Kosztorys

	tys. zł.
Odczynniki i sprzęt do analizy	8
Szkolenie w instytucie PAN	8
Zamrażarka samochodowa	2
Transport samochodem	16.8
Diety	10.2
Konferencje (2*krajowe, 2*międzynarodowe)	16.6
Wynagrodzenie	22.5
Koszty pośrednie	18.5
Suma	102.6