

---

ZAŁĄCZNIK 2  
**AUTOREFERAT**  
(OPIS OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH I DOROBKU)

---

Dr Artur Osikowski

---

Zakład Anatomii Zwierząt  
Instytut Nauk Weterynaryjnych  
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt  
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie  
Al. Mickiewicza 24/28  
30-059 Kraków  
Tel. (012) 662 40 83  
e-mail: a.osikowski@ur.krakow.pl

---

Kraków 2017

**1. Imię i Nazwisko.** Artur Osikowski

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**

**Magister biologii** - studia ukończone w 1997 roku na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego.

**Doktor nauk biologicznych** - tytuł uzyskany 24 czerwca 2003 roku na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego na podstawie rozprawy doktorskiej: „Biologiczne konsekwencje poliandrii u samic traszek z rodzaju *Triturus*”. Promotor: Prof. dr hab. Jan Rafiński.

**3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.**

01.02.1999 – 31.12.2000: Zakład Genetyki i Ewolucjonizmu, Instytut Zoologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński.

01.04.2003 – 31.05.2003 oraz 01.07.2003 – 30.09.2003: Instytut Nauk o Środowisku, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński.

01.10.2003 – 30.09.2016: Zakład Anatomii Porównawczej, Instytut Zoologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński.

02.11.2015 – obecnie: Zakład Anatomii Zwierząt, Instytut Nauk Weterynaryjnych, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie.

**4. Wskazanie osiągnięcia\* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):**

**a) tytuł osiągnięcia naukowego:**

cykl siedmiu prac naukowych pod tytułem:

**„Wpływ historii geologicznej regionu na biogeografię wodnych Truncatelloidea w basenie Morza Egejskiego i na Bałkanach”**

**b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci**

**wydawniczy):**

H.1) **Osikowski A.**, Georgiev D., Hofman S., Falniowski A. (2015) Does the genetic structure of spring snail *Bythinella* (Caenogastropoda, Truncatelloidea) in Bulgaria reflect geological history? *ZooKeys*. **518**: 67–86. <https://doi.org/10.3897/zookeys.518.10035>

(IF = 0,938; MNiSW = 20; cytacji: 2)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na planowaniu eksperymentów, wykonaniu większości prac laboratoryjnych, analizie wyników i udziale w pisaniu manuskryptu. Mój udział szacuję na 70%.*

H.2) **Osikowski A.**, Hofman S., Georgiev D., Kalcheva S., Falniowski A. (2016) Aquatic snails *Ecrobia maritima* (Milaschewitsch, 1916) and *E. ventrosa* (Montagu, 1803) (Caenogastropoda: Hydrobiidae) in the East Mediterranean and Black Sea. *Annales Zoologici*. **66 (3)**: 477–486. <https://doi.org/10.3161/00034541ANZ2016.66.3.012>

(IF = 0,699; MNiSW = 25; cytacji: 1)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na planowaniu eksperymentów, wykonaniu większości prac laboratoryjnych, analizie wyników i udziale w pisaniu manuskryptu. Byłem również autorem korespondencyjnym, przeprowadziłem artykuł przez korekty po recenzjach. Mój udział szacuję na 60%.*

H.3) Szarowska M., **Osikowski A.**, Hofman S., Falniowski A. (2016) Do diversity patterns of the spring-inhabiting snail *Bythinella* (Gastropoda, Bythinellidae) on the Aegean Islands reflect geological history? *Hydrobiologia*. **765 (1)**: 225–243. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2415-x>

(IF = 2,056; MNiSW = 30; cytacji: 3)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na planowaniu eksperymentów, wykonaniu większości prac laboratoryjnych, analizie wyników i udziale w pisaniu manuskryptu. Byłem również autorem korespondencyjnym, przeprowadziłem artykuł przez korekty po recenzjach. Mój udział szacuję na 60%.*

H.4) Falniowski A., Georgiev D., **Osikowski A.**, Hofman S. (2016) Radiation of *Grossuana Radoman*, 1973 (Caenogastropoda: Truncatelloidea) in the Balkans. *Journal of Molluscan Studies*. **82 (2)**: 305–313. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyv062>

(IF = 1,25; MNiSW = 25; cytacji: 0)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na wykonaniu części prac laboratoryjnych, analizie wyników i udziale w pisaniu manuskryptu. Mój udział szacuję na 60%.*

H.5) Szarowska M., **Osikowski A.**, Hofman S., Falniowski A. (2016) *Pseudamnicola Paulucci*, 1878 (Caenogastropoda: Truncatelloidea) from the Aegean Islands: a long or short story? *Organisms Diversity & Evolution*. **16 (1)**: 121–139. <https://doi.org/10.1007/s13127-015-0235-5>

(IF = 2,313; MNiSW = 40; cytacji: 1)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na wykonaniu części prac laboratoryjnych, analizie wyników i udziale w pisaniu manuskryptu. Mój udział szacuję na 40%.*

H.6) **Osikowski A.**, Hofman S., Georgiev D., Rysiewska A., Falniowski A. (2017) Unique, ancient stygobiont clade of Hydrobiidae (Truncatelloidea) in Bulgaria: the origin of cave fauna. *Folia biologica (Kraków)*. **Vol. 65 (2)**: 79-93. [https://doi.org/10.3409/fb65\\_2.79](https://doi.org/10.3409/fb65_2.79)

(IF = 0,581; MNiSW = 15; cytacji: 0)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na wykonaniu większości prac laboratoryjnych, analizie wyników i udziale w pisaniu manuskryptu. Byłem również autorem korespondencyjnym, przeprowadziłem artykuł przez korekty po recenzjach. Mój udział szacuję na 60%.*

H.7) **Osikowski A.** (2017) Isolation as a phylogeny-shaping factor: historical geology and cave habitats in the Mediterranean Truncatelloidea Gray, 1840 (Caenogastropoda). *Folia Malacologica*. <https://doi.org/10.12657/folmal.025.015>

(IF = 0; MNiSW = 14; cytacji: 0)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na wykonaniu całości analizy literatury i napisaniu manuskryptu. Przeprowadziłem artykuł przez korekty po recenzjach. Mój udział wynosi 100%.*

Łączna wartość punktowa prac H.1-H.7 wg. punktacji MNiSW za rok publikacji wynosi: **169**

Sumaryczny *Impact Factor* prac H.1-H.7 wg listy *Journal Citation Reports (JCR)* za rok publikacji wynosi: **7,837**

Oświadczenia współautorów prac H.1-H.6 stanowią załącznik nr. 4.

### **c) omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.**

Wzorce rozmieszczenia geograficznego organizmów żywych były kształtowane przez wiele czynników, a jednym z najistotniejszych są wydarzenia geologiczne, które przeszedł obszar, na którym organizmy te występują. Szczególne znaczenie mają tutaj procesy powodujące izolację geograficzną, która z kolei może prowadzić do częściowego ograniczenia lub całkowitego zatrzymania przepływu genów między rozdzielonymi w ten sposób populacjami. Właśnie w warunkach allopatrii zachodziła zdecydowana większość przypadków specjacji biologicznej (AVISE 2000).

Wschodnia część Morza Śródziemnego, Bałkany oraz basen Morza Czarnego zostały ukształtowane przez szereg wielkoskalowych wydarzeń geologicznych, powiązanych z głębokimi zmianami klimatycznymi (CREUTZBURG 1963; DERMITZAKIS I PAPANIKOLAU 1981; GARCIA-CASTELLANOS I WSP. 2009; KOUGIOUMOUTZIS I WSP. 2014.). Procesy te ukształtowały nie tylko geografie regionu, ale także w dużej mierze wpłynęły na obecne wzorce rozmieszczenia organizmów żywych. Z punktu widzenia kształtowania biogeografii, w historii geologicznej wschodniej części basenu Morza Śródziemnego można wyróżnić kilka

kluczowych okresów. We wczesnym miocenie (23-12 mln lat temu) obszar obecnego Morza Egejskiego był suchym lądem. Dopiero ok. 12 mln lat temu, w wyniku ruchów tektonicznych skorupy ziemskiej, rozpoczęło się formowanie rowu środkowegejskiego (*Mid-Aegean Trench*) (CREUTZBURG 1963; DERMITZAKIS I PAPANIKOLAOU 1981). Proces ten zakończył się ok. 9 mln lat temu, a wypełniony wodami morskimi rów utworzył barierę między Półwyspem Bałkańskim a zachodnią Azją, a także między wschodnimi a zachodnimi wyspami powstałego Morza Egejskiego. Ogromne znaczenie dla przemieszczania się i rozmieszczenia fauny i flory miał również tzw. Kryzys Messyński (*Messinian Salinity Crisis*). Zamknięcie Cieśniny Gibraltarskiej ok. 6 mln lat temu doprowadziło do bardzo szybkiego wyschnięcia prawie całego Morza Śródziemnego, a jego obszar zamienił się w step lub słoną pustynię. Ponowne otwarcie Gibraltaru nastąpiło 5,33 mln lat temu i wody Oceanu Atlantyckiego w krótkim okresie czasu wypełniły basen Morza Śródziemnego (GARCIA-CASTELLANOS I WSP. 2009). Trzecim, bardzo istotnym z punktu widzenia kształtowania rozmieszczenia roślin i zwierząt okresem, był plejstocen, w którym naprzemienne glacjały i interglacjały powodowały wahania poziomu mórz, czego następstwem były wielokrotne wymierania lokalnych populacji, różnicowanie się reliktowych populacji w refugiach glacialnych oraz kolejne rekolonizacje wcześniej zajmowanych terenów po ustąpieniu lodowców. Niebagatelny wpływ na faunę i florę regionu miały również nieistniejące współcześnie zbiorniki wodne będące częściami Paratetydy, takie jak Basen Dacki oraz Morze Panońskie, (SUC I WSP. 2011).

Bardzo duże zróżnicowanie fauny i flory wschodniej części basenu Morza Śródziemnego sprawia, że są one obiektem intensywnych badań (np. LYMBERAKIS I POULAKAKIS 2010; KOUGIOUMOUTZIS I WSP. 2014). Jednak zdecydowana większość badań biogeograficznych dotyczy organizmów lądowych, dlatego bardzo istotne jest zwrócenie uwagi również na organizmy wodne, takie jak ślimaki przodoskrzelne z nadrodziny *Truncatelloidea* Gray, 1840. Są to niewielkie lub średniej wielkości rozdzielnopłciowe mięczaki, posiadające muszle. Ich najczęstszym środowiskiem życia są wody słodkie, ale występują również formy zamieszkujące wody słonawe i pełnosłone. Klasyczne badania taksonomiczne dotyczące *Truncatelloidea* opierały się na analizie morfologii muszli, a także morfologii i anatomii miękkich części ciała, głównie żeńskich i męskich narządów rozrodczych. Na bazie tego typu badań dokonywano opisów gatunków, a także zbudowano klasyczną systematykę. Stopniowe wprowadzanie analizy zmienności białek metodą elektroforezy, a później zastosowanie metod analizy DNA ujawniły, że te klasyczne metody

prowadziły do wielu błędów (FALNIOWSKI I WSP. 2009a, b). Cechy morfologiczne muszli Truncatelloidea często wykazują wysoką zmienność (międzyosobniczą, związaną z wiekiem, międzypopulacyjną, a również międzypokoleniową), a anatomia i morfologia części miękkich bywa mocno uproszczona ze względu na miniaturyzację i przystosowania do zapłodnienia i rozwoju jaj w wodzie. Z tego powodu, opieranie rozpoznawania gatunków jedynie na cechach anatomicznych i morfologicznych prowadzi do błędów i zazwyczaj do zawyżania liczby opisanych gatunków, a czasem do jej zaniżania. Dopiero zastosowanie analiz sekwencji DNA, szczególnie dla większej liczby loci, pozwala na bardziej wiarygodne wyodrębnianie gatunków oraz odtwarzanie wzorców filogenetycznych i filogeograficznych.

Do badań nad strukturą genetyczną metapopulacji ślimaków wodnych z nadrodziny Truncatelloidea wykorzystywałem sekwencje zarówno DNA mitochondrialnego (mtDNA), takich jak fragmentu podjednostki I oksydazy cytochromowej (COI) oraz 16S rRNA, jak i DNA jądrowego (nDNA): ITS-1 (*Internal Transcribed Spacer 1*), 18S rRNA, 28S rRNA i histonu 3 (H3). Najbardziej użytecznym markerem okazała się oksydaza cytochromowa, wykazująca duże zróżnicowanie w obrębie grupy, a zarazem – w następstwie powszechnego stosowania go w tego typu badaniach – jego sekwencje są dostępne w GenBank dla wielu taksonów, co umożliwia porównania na różnych poziomach taksonomicznych.

Otrzymane nowe sekwencje DNA, wraz z sekwencjami referencyjnymi z GenBank, były analizowane pod kątem zróżnicowania genetycznego wewnątrz- i międzypopulacyjnego oraz pokrewieństw filogenetycznych pomiędzy populacjami i gatunkami. Kolejnym krokiem było poszukiwanie potencjalnych związków między zrekonstruowanymi pokrewieństwami filogenetycznymi i filogeograficznymi a wydarzeniami geologicznymi na obszarach, gdzie badane ślimaki występują. Należy podkreślić, że celem prowadzonych przeze mnie badań nie była rewizja taksonomiczna opisanych wcześniej gatunków. Aby taki cel osiągnąć, należałoby zbadać znacznie więcej markerów DNA, ponieważ genealogie pojedynczych genów nie muszą być tożsame z genealogiami gatunków (AVISE 2000). Ponadto, rewizje systematyczne wymagałyby dokładnych badań morfologicznych na dużej liczbie cech i osobników, a liczebność uzyskanych próbek często była do tego celu niewystarczająca.

Jedną z szczególnie mnie interesujących grup ślimaków z nadrodziny Truncatelloidea jest rodzaj źródłarka *Bythinella* Moquin-Tandon, 1855, a szczególnie jego populacje z terytorium Bułgarii (H.1 OSIKOWSKI I WSP. 2015) oraz basenu Morza Egejskiego (H.3 SZAROWSKA I WSP. 2016b). *Bythinella* to niewielkie (2-4 mm wysokości muszli) mięczaki,

zamieszkujące źródła oraz wody podziemne Europy i zachodniej Azji. Jak w przypadku wielu pokrewnych grup, klasyczne badania nad tym rodzajem opierały się na cechach morfologicznych muszli, później również morfologii i anatomii miękkich części ciała. Współczesne badania molekularne dowiodły, że cechy morfologiczne i anatomiczne nie mogą być wystarczającą podstawą systematyki tej grupy, ze względu na niewystarczającą liczbę taksonomicznie użytecznych cech i ich dużą zmienność (FALNIOWSKI 1987; BICHAIN I WSP. 2007; FALNIOWSKI I WSP. 2009a, b). Taksonomia *Bythinella* jest dodatkowo obciążona powszechnym, lecz błędnym oczekiwaniem, że populacje znajdujące się na nowych, potencjalnie izolowanych i odległych od znanych wcześniej stanowiskach, powinny reprezentować odrębne gatunki. Ignoruje się natomiast zmienność osobniczą wynikającą z wieku, międzygeneracyjną, czy będącą następstwem czynników siedliskowych, takich jak różnice w temperaturze lub dostępności pożywienia.

W badaniach nad zróżnicowaniem *Bythinella* z terenu Bułgarii wykorzystano materiał zebrany z 15 stanowisk (w tym czterech jaskiń) (H.1 OSIKOWSKI I WSP. 2015). Sześć z nich było stanowiskami typowymi (*locus typicus*), tj. z nich pochodziły holotypy wcześniej opisanych gatunków. W analizach filogenetycznych nowo uzyskane sekwencje COI zostały połączone ze znanymi wcześniej i dostępnymi w GenBanku sekwencjami *Bythinella* pochodzącymi z 8 stanowisk z Bułgarii, 12 z Rumunii oraz po 5 stanowisk z Serbii i Czarnogóry.

Analiza COI wykazała istnienie pięciu kładów grupujących haplotypy z terenu Bułgarii. Najwięcej haplotypów wchodziło w obręb Kladu I, który obejmował próbki pochodzące z obszaru od Rodopów, poprzez dolinę rzeki Maricy, do środkowej części pasma Starej Płaniny. Kład ten charakteryzuje się niskim wewnętrznym zróżnicowaniem genetycznym (dystans  $p = 0,008$ ) i, jak można wnioskować na podstawie miejsc pozyskania próbek, zawiera haplotypy licznych gatunków nominalnych: *B. angelovi*, *B. dierkingi*, *B. gloeri*, *B. hansboetersi*, *B. ravnogorica*, *B. rhodopensis*, *B. rilaensis*, *B. slaveyae* i *B. srednogorica*. Na podstawie niskiego zróżnicowania genetycznego można więc wnioskować, że liczba gatunków opisanych na podstawie cech morfologicznych i anatomicznych jest w obrębie tego kladu przeszacowana. Kład I sąsiaduje na drzewie COI z Kladami: II (z północno-zachodniej części Bułgarii: gór Piryn oraz jaskiń na terenie Rodopów, gdzie wcześniej opisano gatunek *B. stoychevae*) oraz III (pojedynczy haplotyp z Rodopów, odpowiadający *B. gloeri*). Kład IV (haplotyp pochodzący z południowo-wschodniej części kraju, z gór Strandža) umiejscowił się pomiędzy dwoma referencyjnymi kladami,

utworzonymi przez haplotypy z Serbii i Czarnogóry. Najbardziej genetycznie odrębny od pozostałych był kład odkryty w jaskini Vodni Pech w północno-zachodniej części Bułgarii.

Otrzymane na bazie analizy COI drzewo filogenetyczne wskazuje na odrębność linii ewolucyjnej *Bythinella* z terenu Bułgarii, Serbii i Czarnogóry od linii z terenu Rumunii. Obliczony czas dywergencji tych dwóch kładów wynosi  $7,25 \pm 1,8$  mln lat. Historycznym czynnikiem geograficznym, który prawdopodobnie doprowadził do zróżnicowania tych dwóch głównych linii *Bythinella* na Bałkanach, była obecność Basenu Dackiego. Było to płytkie morze śródlądowe, będące częścią Paratetydy. Wypełniało ono niziną część obecnej Bułgarii pomiędzy pasmem Starej Płaniny a Karpatami, łącząc się następnie na zachodzie przez Żelazną Bramę z Morzem Panońskim (CLAUZON I WSP. 2005; SUC I WSP. 2011). Basen Dacki utrzymywał się w okresie od ok. 11 do 1,8 mln lat temu, powodując znaczne ograniczenie występowania *Bythinella* na terenie obecnej Bułgarii, a także stanowiąc znaczącą barierę dla przepływu genów.

Niskie zróżnicowanie genetyczne w obrębie Kladu I, obejmującego najwięcej haplotypów, sugeruje, że jego historia nie jest długa. Porównując zróżnicowanie genetyczne w obrębie populacji z terenu Bułgarii oraz Rumunii można zauważyć, że w Rumunii jest ono znacznie wyższe. To również wspiera hipotezę o wyginięciu przedstawicieli *Bythinella* na terenie obecnej Bułgarii w wyniku zalania większości jej terytorium przez Basen Dacki, a następnie przez obecność lodowców w wyżej położonych częściach kraju (ZAGORCHEV 2007). Dopiero po ustąpieniu lodowców, w późnym plejstocenie, możliwa była kolonizacja tego terenu przez imigrantów, pochodzących najprawdopodobniej z południa.

Przedmiotem moich badań była również analiza zróżnicowania genetycznego i morfologicznego rodzaju *Bythinella* na wyspach basenu Morza Egejskiego (H.3 SZAROWSKA I WSP. 2016b). Obszar ten, ze względu na położenie geograficzne (miejsce styku trzech kontynentów) oraz złożoną historię geologiczną charakteryzuje się bogatą i zróżnicowaną fauną i florą. Z tego powodu jest to interesujące miejsce do badań filogeograficznych, pozwalających odtwarzać skomplikowane procesy kształtujące rozmieszczenie organizmów i struktury genetyczne ich populacji. Organizmy, które tak jak *Bythinella* zamieszkują źródła lub wody podziemne, są tu szczególnie ciekawym obiektem badań, ponieważ ich siedliska są stosunkowo nietrwałe, jednocześnie w dużym stopniu izolowane, tworząc „wyspy na wyspach”.



W badaniach (H.3 SZAROWSKA I WSP. 2016b) wykorzystano nowo uzyskane próbki *Bythinella* z wysp Andros, Naxos, Chios, Kythira oraz z Krety, a także pochodzące z śródziemnomorskiej części Turcji. Należy zaznaczyć, że intensywne poszukiwania przedstawicieli tego rodzaju przeprowadzono na czternastu wyspach Morza Egejskiego, jednak sukces osiągnięto jedynie na pięciu wymienionych powyżej. Do analiz filogenetycznych wykorzystano też sekwencje *Bythinella* z kontynentalnej Grecji, Peloponezu oraz zachodniej Turcji (Półwysep Dilek), dostępne w GenBank. Otrzymane drzewo filogenetyczne dla COI przedstawia 16 głównych kładów. Najbardziej odrębny z nich obejmuje haplotypy z śródziemnomorskiej części Turcji. Oszacowany czas dywergencji pomiędzy tym kładem a pozostałymi badanymi haplotypami wyniósł  $5,31 \pm 0,51$  mln lat temu, co pokrywa się z datą zakończenia Kryzysu Messyńskiego (5,96-5,33 mln lat temu). Pozwala to wnioskować, że wypełnienie basenu Morza Śródziemnego wodami Atlantyku rozdzieliło te dwie linie ewolucyjne *Bythinella*. Co ciekawe, haplotypy pochodzące z półwyspu Dilek w zachodniej Turcji utworzyły oddzielny kład, jednak zdecydowanie bliższy populacjom z wysp morza Egejskiego oraz kontynentalnej Grecji, co wskazuje, że obszar ten został skolonizowany znacznie później, prawdopodobnie z zachodu.

Część relacji pomiędzy otrzymanymi kładami COI jest dosyć łatwa do interpretacji, ponieważ populacje znajdujące się geograficznie blisko siebie są też blisko ze sobą spokrewnione genetycznie. Tak jest w przypadku haplotypów uzyskanych z populacji z wyspy Kithira – pochodzące stamtąd sekwencje tworzą podkład w obrębie dużego Kladu A, grupującego głównie haplotypy pochodzące z Peloponezu, odległego o zaledwie 115 km. Podobnie, haplotypy z wyspy Andros wykazują najwyższe podobieństwo do haplotypów z wyspy Eubea oraz z Attyki, położonych najbliżej.

Niektóre z pokrewieństw filogenetycznych okazały się jednak dosyć zaskakujące. Haplotypy pochodzące z wyspy Chios, leżącej przy wybrzeżu Turcji, a więc po wschodniej części rowu środkowoegejskiego, wykazują najwyższe pokrewieństwo z kładem grupującym haplotypy z Peloponezu i Kithiry, a nie do ślimaków ze znacznie bliżej leżących stanowisk. Podobnie, haplotypy z wyspy Naxos, leżącej pośrodku Morza Egejskiego, są bliżej spokrewnione z haplotypami z Tessalii i Epiru w kontynentalnej części Grecji niż z bliżej występującymi populacjami z wyspy Andros, Eubei czy Attyki.

Interesujące wyniki otrzymano również dla populacji żyjących na Krecie. Pochodzące stamtąd haplotypy utworzyły trzy klady, nie tworzące jednej gałęzi. Kład grupujący haplotypy

z zachodniej części wyspy, jest najbliższym spokrewnionym z kładem zawierającym haplotypy z Kithiry i Peloponezu. Klady CR1 (wschodnia Kreta) i CR2 (środkowa Kreta) grupują się razem z populacjami z Attyki, Eubei i Andros. Czas dywergencji pomiędzy grupą zachodnią a pozostałymi przedstawicielami *Bythinella* na Krecie (środkowa/wschodnia) wynosi  $4,23 \pm 0,40$  mln lat. Stosunkowo duże zróżnicowanie genetyczne rodzaju *Bythinella* na Krecie nie jest zaskakujące, ponieważ było już stwierdzane u szeregu innych organizmów, a wynika najprawdopodobniej ze złożonej historii geologicznej tej wyspy. Drastyczne wahania poziomu Morza Śródziemnego sprawiały, że podczas niskich stanów wody, np. w okresie Kryzysu Messyńskiego (5,96-5,33 mln lat temu) czy w środkowym plejstocenie (0,4-0,02 mln lat temu) tylko wąski przesmyk oddzielał Kretę od Peloponezu, stwarzając sprzyjające warunki dla inwazji fauny słodkowodnej. Z kolei, przy wysokich stanach morza, tylko najwyższe położone części obecnej Krety wystawały nad jego poziom, tworząc archipelag małych wysepek. Obecne rozmieszczenie *Bythinella* na Krecie odzwierciedla tę sytuację, ponieważ przedstawiciele rodzaju zostali stwierdzeni tylko w wyżej położonych częściach wyspy. Prawdopodobnie historia przedstawicieli tego rodzaju na wyspie jest wypadkową wymierań, kolonizacji i rekolonizacji w zmieniających się warunkach klimatycznych i hydrologicznych.

W pracy tej (H.3 SZAROWSKA I WSP. 2016b) badano również zmienność morfologiczną muszli oraz anatomię narządów rozrodczych. Pomimo dużej zmienności poszczególnych cech anatomicznych i morfologicznych, część kładów wyróżnionych na podstawie analiz genetycznych wykazuje również odrębność morfologiczną, co wspiera wnioskowanie, że klady te reprezentują oddzielne jednostki taksonomiczne. Mimo to wyniki omawianych badań potwierdzają przewidywania, że same cechy anatomiczne i morfologiczne nie są wystarczające dla odtworzenia filogenezy tej grupy ślimaków.

Rodzaj *Bythinella* jest szeroko rozpowszechniony w Europie, jednak ze względu na wymagania środowiskowe jego rozmieszczenie nie jest równomierne. Można wyróżnić obszary, tzw. „hotspots”, na których zróżnicowanie tej grupy jest większe. BENKE I WSP. (2011) wyróżnili w Europie pięć takich miejsc, wszystkie na terenach górzystych: w Pirenejach, wschodnich i zachodnich Alpach oraz wschodnich i zachodnich Karpatach. Prezentowane badania (H.3 SZAROWSKA I WSP. 2016b), w których zastosowano kryteria opisane przez BENKE I WSP. (2011), pozwoliły zidentyfikować szósty hotspot *Bythinella*, na terenie kontynentalnej Grecji.

Kolejnym rodzajem, którego zmienność genetyczną badałem na terenie Bałkanów, jest *Grossuana* Radoman, 1973 (H.4 FALNIEWSKI I WSP. 2016). Liczne gatunki tych niewielkich, zamieszkujących źródła ślimaków, zostały opisane jedynie na podstawie cech morfologicznych muszli oraz morfologii prącia. Podobnie jak w przypadku przedstawionego wcześniej rodzaju *Bythinella*, zastosowanie metod molekularnych było niezbędne dla weryfikacji dotychczasowej wiedzy o zróżnicowaniu *Grossuana*. Badania przy użyciu tylko jednego markera genetycznego nie pozwalają na jednoznaczną i pewną weryfikację systematyki, jednak umożliwiają ogólne wnioskowanie dotyczące struktury genetycznej metapopulacji w granicach zasięgu grupy i prawdopodobnych związków tej struktury z historią geologiczną regionu.

W badaniach wykorzystano okazy pochodzące z 23 stanowisk *Grossuana* na Bałkanach, które do analiz filogenetycznych połączono z dostępnymi w GenBanku piętnastoma sekwencjami referencyjnymi. Otrzymane drzewo COI wskazuje na występowanie dwóch głównych linii *Grossuana*: jednej grupującej haplotypy z terenu Bułgarii (wraz z jedyną z Rumunii, blisko granicy z Bułgarią) i drugiej, łączącej haplotypy z terenu Grecji i Serbii. Oszacowany czas dywergencji między dwoma głównymi kładami wynosi  $3,60 \pm 0,58$  mln lat temu. Domniemana geograficzna linia odgraniczająca regiony występowania tych dwóch linii przebiega przez dolinę rzeki Wielkiej Morawy. W okresie, gdy obszar między Górami Bałkańskimi a Karpatami wypełniał Basen Dacki, łączący się przez Żelazną Bramę z Morzem Panońskim, to właśnie przez dolinę obecnej Morawy biegło słonowodne połączenie tego ostatniego z Morzem Egejskim przez tzw. Bramę Bałkańską. Oznacza to, że w okresie od ok. 5,60 do 1,80 mln lat temu przebiegała w tym miejscu znacząca bariera dla przepływu genów dla ślimaków nie tolerujących słonej wody, a takimi są przedstawiciele *Grossuana*. Co więcej, po ustąpieniu wody morskiej, w trakcie glacjałów, dolinę tę wypełniały lodowce, które również mogły stanowić istotny czynnik izolujący.

Na podstawie otrzymanych wyników (H.4 FALNIEWSKI I WSP. 2016) można wyróżnić na terenie Bułgarii trzy główne grupy *Grossuana*: rodopską (jeden kład), strandzką (dwa klady) oraz bałkańską (trzy klady), przy czym tylko pierwsza z nich jest monofiletyczna. Za rozdzielenie grupy rodopskiej od strandzkiej prawdopodobnie odpowiada dolina rzeki Maricy, która tworzy naturalną barierę ekologiczną. Oszacowany czas dywergencji wszystkich sześciu kładów wynosi 1,26-1,42 mln lat, co odpowiada kalabrowi w plejstocenie. Obecne w tym okresie lodowce na terenie gór Pirin i Riła (ZAGORCHEV 2007) uniemożliwiały występowanie tam ślimaków wodnych, stanowiąc barierę dla przepływu genów. Niewielkie

zróżnicowanie genetyczne *Grossuana* na tym terenie sugeruje, że skolonizowany został on dopiero po ustąpieniu zlodowaceń. Należy zauważyć, że wyniki te są bardzo podobne do przedstawionych wyżej dla bułgarskich przedstawicieli rodzaju *Bythinella* (H.1 OSIKOWSKI I WSP. 2015), co czyni wyciągane wnioski bardziej prawdopodobnymi.

Kolejny z badanych przeze mnie rodzajów, *Pseudamnicola* Paulucci, 1878, obejmuje gatunki zamieszkujące źródła w Hiszpanii, Francji, Holandii, Włoszech, na południowych Bałkanach, w Rumunii, Turcji, a także na Cyprze. Podobnie jak w przypadku poprzednio omawianych grup, systematyka *Pseudamnicola* wciąż opiera się na cechach morfologicznych, takich jak kształt muszli (który jest silnie zmienny) oraz anatomii i morfologii narządów rozrodczych, w których obrębie cech można wyróżnić niewiele, a w dodatku wszystkie te cechy charakteryzuje duża zmienność osobnicza. Dane molekularne były dostępne tylko dla nielicznych gatunków, dlatego podjęto próbę przeprowadzenia szerszej zakrojonych badań, które pozwoliłyby na odtworzenie filogenezy przedstawicieli tego rodzaju na wyspach Morza Egejskiego, przy użyciu markerów molekularnych. W tym celu wykorzystano zarówno markery mitochondrialne (COI i 16S rRNA), jak i jądrowe (18s rRNA, 28s rRNA, H3).

Ślimaki zostały pozyskane z 17 stanowisk na 7 wyspach Morza Egejskiego: Andros, Chios, Karpathos, Naxos, Rodos, Tinos i Krecie (H.5 SZAROWSKA I WSP. 2016a). Otrzymane sekwencje 18s rRNA i 28s rRNA nie wykazywały różnic pomiędzy stanowiskami. W przypadku markera H3, stwierdzono występowanie tylko dwóch haplotypów. Otrzymano także 61 sekwencji 16s rRNA, które z jednej strony nie wykazywały zmienności wewnątrzpopulacyjnej, z drugiej były specyficzne dla konkretnych populacji, za wyjątkiem dwóch populacji z wyspy Andros, w której obecny był ten sam haplotyp. Największą liczbę nowych sekwencji – 151 – uzyskano dla COI. Do dalszych analiz filogenetycznych dane te połączono z referencyjnymi sekwencjami *Pseudamnicola* (7 populacji z Peloponezu, Attyki oraz wysp Kithiry i Eubei). Na drzewie filogenetycznym haplotypy te zgrupowały się w 16 kładów. Wyniki analiz przeprowadzonych metodą GMYC (*the generalised mixed Yule coalescent*) oraz ABGD (*automatic barcode gap discovery*) pozwoliły postawić hipotezę, że każdy z tych 16 kładów COI odpowiada oddzielnemu gatunkowi, jednak tego typu wnioskowanie na podstawie tylko jednego zbadanego fragmentu DNA należy zawsze traktować z ostrożnością.

Wewnątrzpopulacyjne zróżnicowanie genetyczne u *Pseudamnicola* jest stosunkowo małe, przy czym jest większe w populacjach zamieszkujących kontynent i blisko położone

wyspy. Czas dywergencji kładów *Pseudamnicola* pochodzących z północnej i środkowej części obszaru egejskiego jest mniejszy niż 2 mln lat. Dwa najwcześniej oddzielone klady pochodzą z Peloponezu (czas oddzielenia: 4,52 i 3,27 mln lat temu). Populacje z Rodos i Karpathos tworzą kład, który oddzielił się 2,93 mln lat temu, populacja z Krety 2,09 mln lat temu, natomiast populacje z Kithiry oraz część populacji z Peloponezu – 2,3-2,55 mln lat temu. To że te linie ewolucyjne są stosunkowo nowe znajduje potwierdzenie w fakcie, że w badanych trzech markerach jądrowych zróżnicowanie genetyczne było bardzo niewielkie (H3) albo nie występowało w ogóle (18s rRNA i 28s rRNA). Wyniki te sugerują, że kolonizacja wysp Morza Egejskiego przez przedstawicieli rodzaju *Pseudamnicola* zaszła już po zakończeniu Kryzysu Messyńskiego. Najbardziej prawdopodobną drogą migracji były połączenia lądowe między wyspami, obecne szczególnie w późnym pliocenie w wyniku obniżenia poziomu morza.

Do nadrodziny Truncatelloidea należą nie tylko ślimaki słodkowodne, jak przedstawione powyżej *Bythinella*, *Grossuana* i *Pseudamnicola*, ale również formy żyjące w wodach słonawych. Czynniki kształtujące ich rozmieszczenie są odmienne, ze względu choćby na inne drogi dyspersji, jednak rozmieszczenie to również ukształtowały istotne wydarzenia geologiczne i klimatyczne. Przykładem są tu ślimaki z rodzaju *Ecrobia*. Badałem zmienność genetyczną oraz morfologiczną tych ślimaków z pięciu stanowisk: dwóch na Morzu Czarnym (Jezioro Pomorie i litoral Morza Czarnego koło Konstancy) i trzech ze wschodniej części basenu Morza Śródziemnego (estuaria na Eubei, w Kato Souli w Attyce i w Itei nad Zatoką Korynecką) (H.2 OSIKOWSKI I WSP. 2016). Do analiz filogenetycznych użyto dodatkowo 17 sekwencji referencyjnych; pochodziły one z Morza Czarnego, Morza Śródziemnego, atlantyckiego wybrzeża Hiszpanii, Niemiec, Wielkiej Brytanii, a także z USA, gdzie przedstawiciel tego rodzaju został zawleczony w wyniku działalności człowieka. Analiza zmienności COI potwierdziła występowanie dwóch gatunków *Ecrobia*: *E. maritima* i *E. ventrosa*. Populacje pochodzące z Morza Czarnego (poza jedną, o której niżej) oraz z basenu Morza Egejskiego należą do gatunku *E. maritima*; populacje znajdujące się na zachód od Morza Egejskiego należą do gatunku *E. ventrosa*. Do tego drugiego należy też jedna populacja z Morza Czarnego, a konkretnie z okolic Konstancy. Oszacowany czas dywergencji tych dwóch gatunków wynosi  $3,30 \pm 0,23$  mln lat. Data ta sugeruje, że rozdzielenie linii ewolucyjnych *Ecrobia* nastąpiło w pliocenie, gdy podczas zlodowaceń poziom wody w obecnych morzach Śródziemnym i Czarnym obniżał się co najmniej o 150 m, co prowadziło do zamknięcia połączenia między tymi dwoma basenami przez cieśninę Bosfor i Morze

Marmara. Otrzymane wyniki pozwalają przypuszczać, że to rozdzielenie Morza Czarnego od Morza Śródziemnego doprowadziło do niezależnej ewolucji dwóch linii *Ecrobia* – w Morzu Czarnym *E. maritima*, a w Morzu Śródziemnym *E. ventrosa*. Obecnie obserwowane rozmieszczenie, z *E. maritima* obecną również w basenie Morza Egejskiego, można tłumaczyć późniejszą migracją tego gatunku z Morza Czarnego. Bosfor i Morze Marmara stanowią naturalną barierę dla wielu organizmów. Przepływ wody przez cieśninę Bosfor jest ograniczony i dwukierunkowy – górny prąd, o mniejszym zasoleniu i niższej temperaturze skierowany jest w kierunku Morza Marmara, więc możliwy w nim jest bierny transport ślimaków przystosowanych do życia w wodach słonawych (a takimi jest *Ecrobia*). Prąd przeciwny, tworzony przez cieplejsze i silniej zasolone wody, biegnie poniżej i wpada bezpośrednio do strefy beztlenowej Morza Czarnego, co czyni bierny transport ślimaków w tym kierunku znacznie mniej prawdopodobnym. Zaskakującym wynikiem badań jest stwierdzenie pojedynczej populacji *E. ventrosa* na obszarze Morza Czarnego, w okolicach Konstancy. Jej obecność może być wynikiem biernego transportu ślimaków przez ptaki (które to zjawisko było wielokrotnie stwierdzane u ślimaków ), lub w wyniku działalności człowieka.

Kolejnym interesującym wynikiem prezentowanych badań nad *Ecrobia* jest wykazanie wysokiej odrębności genetycznej populacji *E. maritima* zamieszkującej jezioro Pomorie. Jest to zbiornik o powierzchni ok. 8,5 km<sup>2</sup>, oddzielony od Morza Czarnego wąską mierzeją. Utrzymują się w nim bardzo specyficzne warunki fizykochemiczne, m.in. bardzo duży gradient zasolenia (wynoszący od 1 do 140‰) (HIEBAUM 2010). Analiza zmienności COI wykazała, że populacja *E. maritima* różni się znacznie genetycznie od populacji tego gatunku z okolic Burgas, odległej o zaledwie 20 km, gdzie chemizm wody jest już typowy dla litoralu Morza Czarnego. Sugeruje to, że przepływ genów pomiędzy populacją *E. maritima* z jeziora Pomorie a innymi populacjami tego gatunku jest skrajnie ograniczony. Prawdopodobnie specyficzne warunki środowiskowe panujące w jeziorze Pomorie doprowadziły do ewolucji lokalnych adaptacji, które ograniczają lub uniemożliwiają efektywną kolonizację przez te ślimaki litoralu czarnomorskiego, a podobnie osobniki litoralne nie są w stanie efektywnie kolonizować tego jeziora. Należy jednak dodać, że cechy morfologiczne *E. maritima* z populacji z jeziora Pomorie, takie jak kształt muszli i morfologia męskich narządów rozrodczych, nie wykazują istotnych różnic w porównaniu z populacjami tego gatunku spoza jeziora. Oczywiście jezioro Pomorie jest za młodym akwenem aby mogło w nim dojść do wytworzenia tak znacznej odrębności genetycznej, a jedynie pełni funkcję

refugium dla przedstawicieli kladu, który powstał i ewoluował gdzieś indziej w trakcie burzliwych dziejów wód ponto-kaspijskich.

Kolejna praca poświęcona jest filogenezie Truncatelloidea zamieszkujących jaskinie na terytorium Bułgarii (H.6 OSIKOWSKI I WSP. 2017). Izolacja i małe zróżnicowanie siedlisk oraz specyficzne warunki środowiskowe, prowadzące do powstawania szczególnych adaptacji, czynią organizmy jaskiniowe bardzo ciekawymi obiektami do badań ewolucyjnych i ekologicznych. Wśród wodnych zwierząt jaskiniowych Bałkanów, spędzających swój cały cykl życiowy w wodzie (czyli tzw. stygobiontów), znaczącą grupę stanowią mięczaki należące do Truncatelloidea. Są one jednak wciąż bardzo słabo zbadane, przede wszystkim ze względu na trudną dostępność ich siedlisk. Często jedynym dostępnym materiałem są puste muszle, wypłukane przez płynącą wodę na zewnątrz jaskiń. W związku z tym, uzyskanie wystarczającej liczby osobników do przeprowadzenia genetycznych badań populacyjnych jest trudne.

Udało się zebrać okazy Truncatelloidea z 13 jaskiń na terenie Bułgarii (H.6 OSIKOWSKI I WSP. 2017). Okazy te nie reprezentowały przedstawicieli rodzajów *Bythinella* i *Grossuana*, których jaskiniowe populacje były badane wcześniej (H.1 OSIKOWSKI I WSP. 2015; H.4 FALNIOWSKI I WSP. 2016). Celem badań było sprawdzenie, czy ślimaki te tworzą grupę monofiletyczną oraz jaki mógł być możliwy scenariusz powstania form jaskiniowych na tym terenie. W tym celu przeprowadzono badania filogenetyczne przy wykorzystaniu markerów mitochondrialnych (COI) oraz jądrowych (H3, 18S rRNA, 28S rRNA). Podstawą dalszego wnioskowania, podobnie jak w wcześniej opisanych badaniach, była głównie analiza COI. Otrzymano 25 sekwencji tego markera, które do dalszych analiz filogenetycznych zostały wykorzystane wraz z sekwencjami blisko spokrewnionych ślimaków, występujących na terenie Bałkanów. Na drzewie COI formy jaskiniowe utworzyły oddzielny kład, podzielony na sześć podkladów: *Balkanica/Balkanospeum*, *Devetakia*, *Cavernisa*, *Pontobelgrandiella*, *Devetakiola* i *Stoyanovia*. Wzajemne relacje poszczególnych podkladów pozostają nierozwiązane i należy je traktować jako jedną dużą politomię, najprawdopodobniej twardą, czyli odzwierciedlającą ten sam czas specjacji przodków wszystkich tych kładów, a nie niekompletność danych. Czas dywergencji „kladu jaskiniowego” od siostrzanego kladu grupującego pozostałe Sadlerianinae wynosi  $6,75 \pm 0,8$  mln lat temu.

Otrzymane wyniki jasno wskazują, że wszystkie zbadane jaskiniowe formy Truncatelloidea tworzą jeden kład. Co jest istotne, kład ten nie zawiera żadnej formy żyjącej

na powierzchni, poza jednym wyjątkiem, którym jest *Pontobelgrandiella*. Występuje ona w jaskiniach, jednak pojedyncze żywe osobniki znajdowane są również poza jaskiniami, w wypływających z nich źródłach (RYSIEWSKA I WSP. 2016). Nie jest jasne, czy te osobniki są przystosowane do życia poza jaskiniami, czy też są tylko przypadkowo wypłukiwane i szybko giną. Faktem jest, że badania genetyczne, w których również uczestniczyłem (RYSIEWSKA I WSP. 2016) wskazały na niską zmienność pomiędzy szesnastoma zbadanymi populacjami *Pontobelgrandiella* (dystanse  $p$ : 0,007-0,015). Może to wskazywać na stosunkowo niedawną kolonizację środowiska jaskiniowego przez ten rodzaj.

Wyniki zawarte w pracy (H.6 OSIKOWSKI I WSP. 2017) pozwalają na pewne wnioski dotyczące możliwego scenariusza kolonizacji jaskiń. Istnieją dwie alternatywne hipotezy, próbujące wyjaśnić mechanizm powstawania form jaskiniowych (JUAN I WSP. 2010). Pierwsza z nich, hipoteza „reliktu klimatycznego” (*climatic-relict*), zakłada że przedstawiciele populacji żyjących na powierzchni, posiadający pewne preadaptacje do życia pod ziemią, znajdują schronienie w jaskiniach, stopniowo je kolonizując. Kolejnym etapem jest wyginięcie populacji powierzchniowych (np. w efekcie drastycznych zmian klimatycznych), co sprawia, że pomiędzy jaskiniowymi populacjami zanika przepływ genów i dalej ewoluują one już niezależnie, w izolacji. Hipotezą alternatywną jest teoria „modyfikacji adaptacyjnej” (*adaptive shift*). Według niej, pierwotnie powierzchniowe organizmy aktywnie kolonizują jaskinie w poszukiwaniu nowych siedlisk i zasobów, ewoluując w warunkach ciągłego przepływu genów z populacjami powierzchniowymi. Zastosowanie tych teoretycznych przewidywań dla rzeczywistych przykładów biologicznych nie jest łatwe. Należałoby oczekiwać, że jeżeli zadziałał pierwszy scenariusz („relikt klimatyczny”), stwierdzone populacje jaskiniowe powinny występować bez strefy kontaktu z blisko filogenetycznie spokrewnionymi formami powierzchniowymi. Alternatywnie, allopatryczne występowanie blisko spokrewnionych taksonów powierzchniowych i jaskiniowych sugerowałoby zajście mechanizmu „modyfikacji adaptacyjnej”. Nasze wyniki nie pozwalają jednoznacznie określić, który mechanizm jest bardziej prawdopodobny w przypadku jaskiniowych kładów *Truncatelloidea* z Bułgarii. Jednak wydaje się, że bardziej prawdopodobnym jest scenariusz „reliktu klimatycznego”, ponieważ wszystkie klady łączące populacje jaskiniowe wyewoluowały stosunkowo dawno (ok. 7 mln lat temu) i w podobnym okresie, a poza jednym możliwym wyjątkiem (*Pontobelgrandiella*), nie stwierdzono parapatrycznych populacji powierzchniowych.



Najważniejsze wyniki prowadzonych przeze mnie badań nad filogeografią Truncatelloidea, w tym tych składających się na osiągnięcie habilitacyjne, zebrałem i przedstawiłem w artykule przeglądowym (H.7 OSIKOWSKI 2017). Podsumowując, moje główne osiągnięcie naukowe znacząco poszerzyło stan wiedzy dotyczącej filogeografii i filogenezy ślimaków wodnych z nadrodziny Truncatelloidea na wyspach Morza Egejskiego, Bałkanach i w basenie Morza Czarnego. Stan wiedzy na temat rozmieszczenia taksonów takich jak *Bythinella*, *Pseudamnicola*, *Grossuana* oraz *Ecrobia* został poszerzony o nowe stanowiska. Co istotne, otrzymane z tych stanowisk dane genetyczne (sekwencje markerów genetycznych, głównie COI) były analizowane wraz z dostępnymi w GenBank sekwencjami pochodzącymi z innych stanowisk, co poszerzyło wnioski. Porównanie otrzymanych filogenez ze stanem wiedzy o historii geologicznej regionu pozwoliło na powiązanie rozmieszczenia i pokrewieństw z ważnymi wydarzeniami, takimi jak Kryzys Messyński czy zlodowacenia plejstoceny. Ważnym osiągnięciem było też pierwsze kompleksowe zbadanie fauny jaskiniowej Truncatelloidea, wykazujące odrębność ewolucyjną tej linii względem form powierzchniowych.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych.

Prace składające się na moje tzw. osiągnięcie habilitacyjne nie są jedynymi, w których realizowałem zainteresowania naukowe związane z filogenezą ślimaków wodnych. Uczestniczyłem w badaniach nad filogeografią ślimaków z rodzaju *Kerkia*, w których potwierdzono na bazie danych molekularnych odrębność *Kerkia* od rodzaju *Hauffenia*, mimo bardzo niewielkich różnic morfologicznych i anatomicznych pomiędzy tymi taksonami (RYSIEWSKA I WSP. 2017). Interesującym wynikiem tych badań było także stwierdzenie introgresji mtDNA *Hauffenia* z obszaru Centralnej Słowenii do populacji *Kerkia* z centralnej i południowej Chorwacji.

Jestem współautorem pracy (GEORGIEV I WSP. 2017) dotyczącej morfologii i anatomii jaskiniowych przedstawicieli Truncatelloidea z terenu Bułgarii, badanych molekularnie w ramach omawianej wcześniej pracy (H.6 OSIKOWSKI I WSP. 2017). Praca ta zawiera m.in. opis dwóch nowych rodzajów: *Devetakiola* Georgiev, 2017 oraz *Stoyanovia* Georgiev, 2017.

Brałem także udział w badaniach nad rodzajem *Pseudorientalia* Radoman, 1983, znanego wcześniej jedynie z terytorium Turcji. Wraz z współpracownikami opisaliśmy nowe stanowiska tego rodzaju na wyspie Samos (SZAROWSKA I WSP. 2014a) oraz wyspach Lesbos i Chios (SZAROWSKA I WSP. 2014b). Badania molekularne tych populacji przy użyciu markerów COI i 16s rRNA wykazały niewielką (w wypadku 16s rRNA brak) zmienność wewnątrzpopulacyjną i wysoką zmienność międzypopulacyjną. Analiza obydwu markerów dała w wyniku drzewa filogenetyczne, na których każda z trzech populacji wyspowych tworzyła oddzielny kład. Wysokie dystanse  $p$  między kładami (0,105-0,133) pozwalają przypuszczać, że na każdej z badanych wysp żyje oddzielny gatunek *Pseudorientalia*. Ponadto genetyczne zróżnicowanie jest tak wysokie, że musiało powstać znacznie wcześniej niż powstały te wyspy.

Interesujące wyniki otrzymano w badaniach nad kolejnymi przedstawicielami Truncatelloidea – rodzajem *Heleobia* Stimpson, 1865 na Krecie (SZAROWSKA I WSP. 2014c). Badania genetyczne wykazały zaskakująco niski poziom zmienności we wszystkich trzech badanych populacjach – znaleziono tylko dwa haplotypy COI, różniące się jedną substytucją nukleotydową. Co więcej, porównanie otrzymanych sekwencji z sekwencjami innych nominalnych gatunków *Heleobia* z kontynentalnej Europy wykazały bardzo niewielkie zróżnicowanie genetyczne (dystans  $p = 0,008$ ), co sugeruje, że pięć gatunków tego rodzaju opisanych na podstawie cech morfologicznych i anatomicznych w rzeczywistości zapewne reprezentuje jeden gatunek biologiczny.

Brałem również udział w badaniach nad przedstawicielami rodzaju *Daphniola* Radoman, 1973 na wyspach Morza Egejskiego. Do 2012 rodzaj ten był uważany za endemiczny dla Grecji kontynentalnej (RADEA I WSP. 2013). Wtedy jednak pojedynczy osobnik został odkryty na wyspie Chios, a trzy młodociane na wyspie Rodos (SZAROWSKA I WSP. 2014d). Morfologia muszli znalezionych osobników była typowa dla *Daphniola*. Badania COI ujawniły dwa haplotypy tego markera – po jednym na każdej z wysp. Analizy filogenetyczne wykazały, że pomimo dużego dystansu geograficznego pomiędzy tymi dwoma wyspami, zróżnicowanie genetyczne między populacjami *Daphniola* jest niewielkie (dystans  $p = 0,005$ ), a szacowany czas dywergencji to zaledwie 0,24 mln lat. Sugeruje to, że wyspy te, leżące w wschodniej części Morza Egejskiego, zostały skolonizowane stosunkowo niedawno. Przewidywania te potwierdza topologia drzewa COI, na którym haplotypy z Rodos i Chios grupują się z *D. louisii* (FALNIOWSKI I SZAROWSKA 2000) z Attyki, a oszacowany czas rozdzielenia to  $2,81 \pm 0,86$ , czyli długo po zakończeniu Kryzysu Messyńskiego.

Kolejnymi badanymi przy moim udziale przedstawicielami Truncatelloidea były dwa gatunki z rodzaju *Islamia* Radoman, 1973: *I. zermanica* i *I. valvataeformis* (BERAN I WSP. 2016). Wykazano nie tylko odrębność morfologiczną, ale również, po raz pierwszy, także genetyczną (COI) tych dwóch gatunków. Ponadto, w przypadku *I. valvataeformis* wykazano nowe dla nauki stanowisko tego gatunku w Slime (Chorwacja), stosunkowo odległe od jedyne wcześniej znanego miejsca jego występowania w Vrelo Bosne k. Sarajewa (Bośnia i Hercegowina).

Swoje zainteresowania naukowe dotyczące badań nad filogenezą organizmów przy zastosowaniu technik analizy DNA realizowałem również biorąc udział w analizach pełnych sekwencji genomów mitochondrialnych kilku gatunków żab zielonych (*Pelophylax*). Badania te umożliwiły m. in. otrzymanie pierwszych, bardzo dobrze potwierdzonych drzew filogenetycznych dla rodzaju *Pelophylax*. Jednym z badanych gatunków był *P. cretensis*, którego uzyskany genom (HOFMAN I WSP. 2016a) był pierwszym kompletnym (zawierającym również region kontrolny - CR) genomem mitochondrialnym zsekwencjonowanym dla żab zielonych zachodniej Palearktyki. Genom ten posiadał typowy dla innych płazów z grupy Neobatrachia układ genów, jednak dywergencja pomiędzy gatunkami kontynentalnymi (*P. ridibundus*, *P. lessonae*) a *P. cretensis* była znaczna (odpowiednio 8,0 i 12,6%). Jednocześnie genom ten jest podstawą do dalszych filogenetycznych analiz żab zielonych, gdyż może stanowić jeden z punktów kalibracyjnych zegara molekularnego. Gatunek ten jest endemitem Kreta, a więc podobnie jak dla wcześniej opisywanych gatunków/populacji ślimaków z Kreta, znany jest czas rozdzielenia populacji wyspowych i kontynentalnych.

Zsekwencjonowano również genomy mtDNA dla innych gatunków *Pelophylax*: *P. cypriensis* z Cypru, oraz *P. epeiroticus*, *P. kurtmuelleri* i *P. shqipericus*, występujących na Bałkanach (HOFMAN I WSP. 2016b). Nowo uzyskane genomy mitochondrialne wraz z danymi uzyskanymi we wcześniejszych badaniach pozwoliły na przeprowadzenie dokładnych i obarczonych małym błędem analiz filogenetycznych. Wykryto dwie główne linie ewolucyjne żab zachodniej Palearktyki. Do pierwszej - “*ridibundus/bedriagae*” należą: *P. ridibundus*, *P. kurtmuelleri*, *P. cypriensis*, *P. cretensis* oraz *P. epeiroticus*. Druga linia - “*lessonae*” - obejmuje *P. lessonae* i *P. shqipericus*.

Istotnym elementem mojego dorobku naukowego są prace poświęcone różnym aspektom biologii rozrodu traszek (Urodela, Amphibia). Rozród tych zwierząt ma miejsce w wodzie. Występuje u nich zapłodnienie wewnętrzne, jednak samce nie posiadają narządów

kopulacyjnych, a plemniki przekazywane są samicom pośrednio w formie pakietów, tzw. spermatoforów, składanych przez samce na dnie zbiorników wodnych w trakcie skomplikowanego tańca godowego. Po pobraniu przez samicę wargami kloaki spermatoforu, plemniki przedostają się do spermateki i tam są składowane przez dłuższy czas, będąc wykorzystywanymi do zapładniania jaj składanych później już bez obecności samca.

Przeprowadziłem badania nad traszką karpacką (*Lisstriton (Triturus) montandoni*), aby przetestować hipotezę o możliwym znaczeniu adaptacyjnym wielokrotnych kojarzeń samic (czyli poliandrii) (OSIKOWSKI I RAFIŃSKI 2001). W tym celu porównano sukcesy rozrodcze samic kojarzonych w trakcie sezonu rozrodczego z jednym lub z wieloma samcami. Okazało się, że samice kojarzone tylko jeden raz produkowały w ciągu sezonu rozrodczego mniej jaj i miały wyższy procent nie rozwijających się jaj w porównaniu z samicami poliandrycznymi. Eksperyment ten wykazał, że przynajmniej w przypadku traszki karpackiej, kojarzenie się z więcej niż jednym samcem jest strategią adaptacyjną i zwiększa sukces rozrodczych samic poliandrycznych.

Przedmiotem moich zainteresowań badawczych było również mechanizm składowania plemników w spermatece samicy traszki górskiej (*Ichtyosaura alpestris*). Testowano hipotezę, że w sytuacji, gdy samica kojarzy się z więcej niż jednym samcem, plemniki od poszczególnych partnerów nie mieszają się między sobą w kanalikach spermateki (RAFIŃSKI I OSIKOWSKI 2002). Eksperyment ten nie wykazał występowania dominacji któregośkolwiek z ojców w potomstwie samic poliandrycznych. Nie stwierdzono również występowania seryjnego ojcostwa nawet w porcjach jaj składanych w niewielkich odstępach czasu, co wskazuje, że plemniki pochodzące od różnych partnerów danej samicy mieszają się w spermatece samicy lub później, w momencie zapładniania składanych jaj.

Przeprowadziłem również eksperyment mający na celu poszerzenie wiedzy na temat mechanizmu transportu plemników do spermateki samic traszki górskiej (*I. alpestris*) (OSIKOWSKI 2007a). Badając zawartość samic traszek górskich, inseminowanych sztucznie pod narkozą w warunkach laboratoryjnych, stwierdzono obecność plemników w spermatekach 9 z 10 samic inseminowanych spermatoforami, ale tylko u jednej z 8 samic inseminowanych zawartością nasieniowodów pobranych od samców. Wyniki eksperymentu wskazują więc, że składniki spermatoforu powstające w kloace są niezbędne dla udanego transportu plemników do spermateki. Drugie możliwe wytłumaczenie obserwowanych

wyników jest takie, że plemniki obecne w nasieniowodach nie są w pełni mobilne i dlatego nie udaje im się dotrzeć do spermateki samicy.

Przedmiotem moich badań była również komunikacja feromonalna, odgrywająca duże znaczenie w godach traszek i mogąca odgrywać ważną rolę w powstawaniu prezygotycznej izolacji rozrodczej u hybrydujących w warunkach naturalnych gatunków traszek: zwyczajnej (*Lissotriton vulgaris*) i karpackiej (*L. montandoni*) (OSIKOWSKI I WSP. 2008). Wykorzystując cDNA pozyskane z gruczołów dorsalnych samców tych dwóch gatunków, udało nam się namnożyć i zsekwencjonować prekursorzy domniemanych białkowych feromonów godowych: pięć różnych u traszki zwyczajnej i trzy u traszki karpackiej (OSIKOWSKI I WSP. 2008). Dostarczyło to dowodów na to, że w gruczołach dorsalnych obydwu gatunków podlega ekspresji więcej niż jeden gen kodujący białka feromonalne.

Rolę feromonów godowych w hybrydyzacji pomiędzy gatunkami siostrzanymi: traszką zwyczajną i traszką karpacką badałem również w aspekcie behawioralnym (OSIKOWSKI 2012). W swoich badaniach wykazałem, że tej parze gatunków występuje asymetryczność preferencji samic wobec feromonów godowych samców gatunku własnego i siostrzanego, z którym hybrydują. W testach wyboru, przy wykorzystaniu ekstraktów z produkujących feromony godowe gruczołów dorsalnych samców traszek, samice traszki zwyczajnej nie były selektywne, spędzając podobny czas przy źródle homo- i heterospecyficznego feromonu. Dla odmiany, samice traszki karpackiej wykazywały wybiórczość, spędzając więcej czasu przy źródle feromonu własnego gatunku. Wyniki te potwierdziły wcześniejsze obserwacje dotyczące innych aspektów biologii rozrodu tych dwóch gatunków, sugerujących, że w przypadku dochodzenia do kojarzeń międzygatunkowych, częściej możliwe jest kojarzenie „samica traszki zwyczajnej x samiec t. karpackiej” niż „samica t. karpackiej x samiec t. zwyczajnej”.

Częścią badań nad biologią rozrodu traszek było również opisanie, po raz pierwszy w literaturze naukowej, budowy anatomicznej kloaki samca traszki karpackiej (*Lissotriton montandoni*) (OSIKOWSKI I CIERNIAK-ZUZIA 2013). Na podstawie badań przy zastosowaniu metod mikroskopii świetlnej wykazano, że anatomia tej części ciała samca traszki karpackiej jest bardzo zbliżona do budowy blisko spokrewnionych gatunków, w tym siostrzanej traszki zwyczajnej (*L. vulgaris*), z którą hybryduje. Stwierdzono obecność czterech rodzajów gruczołów kloaki, silnie rozwiniętych w trakcie sezonu rozrodczego. W porównaniu z traszką zwyczajną, której kloaka została opisana wcześniej (SEVER I WSP. 1990), jedyną stwierdzoną

różnicą jest obecność u traszki karpackiej dwóch skupisk gruczołów brzusznych (*ventral glands*) – przednich i tylnych. Podział ten nie występuje u traszki zwyczajnej.

Moje zainteresowania badawcze obejmują również monitoring herpetologiczny. W ramach takich prac dokonałem m.in. pierwszych opublikowanych obserwacji dotyczących o zimowaniu larw traszki górskiej (*I. alpestris*) na terenie Gorców (OSIKOWSKI 2014).

Swoje umiejętności dotyczące wykorzystania metod molekularnych do analizy ojcostwa, nabyte w trakcie studiów doktoranckich, wykorzystałem biorąc udział w badaniach genetycznych nad zagadnieniem wielokrotnych kojarzeń samic mrówek z gatunku *Myrmica scabrinodis* (ŚLIWIŃSKA I WSP. 2008). Ustalono w nich, że szacowana proporcja samic poliandrycznej w 20 badanych gniazdach wynosiła 0,71, co pozwala na uznawanie poliandrii u badanego gatunku za zjawisko powszechne.

Podsumowując, mój obecny dorobek naukowy obejmuje 19 prac z Listy A Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (ich sumaryczny *Impact Factor* wynosi 26,153) oraz 8 z listy B MNiSW. Sumaryczna liczba zgromadzonych punktów wg. punktacji MNiSW za rok publikacji wynosi 458. Mój indeks Hirscha wynosi 4, a liczba cytacji prac, których jestem autorem lub współautorem, wynosi 83. Jestem autorem lub współautorem 14 krajowych i zagranicznych doniesień konferencyjnych – w 12 z nich byłem autorem prezentującym. Byłem kierownikiem dwóch grantów przyznanych przez Komitet Badań Naukowych, w dwóch kolejnych byłem wykonawcą. W roku 2016 otrzymałem nagrodę zespołową III stopnia Rektora UJ za działalność naukową.

## **6. Omówienie działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej.**

Obok aktywności naukowo-badawczej, prowadziłem także intensywną działalność dydaktyczną oraz organizacyjną. W trakcie pracy na Uniwersytecie Jagiellońskim prowadziłem ćwiczenia z kursów: „Zoologia kręgowców” (ćwiczenia oraz ćwiczenia terenowe), „Ewolucjonizm”, „Anatomia porównawcza kręgowców”, „Histologia”, a także „Proseminarium”. W latach 2010-2013 prowadziłem również wykłady i ćwiczenia z kursu „Zoologia-kręgowce” oraz ćwiczenia terenowe z kursu „Fauna kręgowców” w Podhalańskiej Państwowej Wyższej Szkole Zawodowej w Nowym Targu.

Po zmianie miejsca zatrudnienia na Uniwersytet Rolniczy prowadzę ćwiczenia z kursów: „Anatomia zwierząt”, „Anatomia funkcjonalna zwierząt i człowieka”, „Kynologia”, a także wykłady i ćwiczenia z kursów: „Anatomia porównawcza zwierząt” oraz „Anatomia i histologia układów rozrodczych zwierząt domowych i laboratoryjnych”. Należy zaznaczyć, że pracując na Uniwersytecie Rolniczym, każdego roku prowadzę zajęcia w wymiarze godzin znacznie przekraczającym pensum na swoim stanowisku. Byłem promotorem sześciu prac magisterskich i 18 licencjackich.

Swojej działalności dydaktycznej nie ograniczałem do prowadzenia zajęć na poziomie akademickim. W ramach popularyzacji wiedzy prowadziłem zajęcia dydaktyczne dla licealistów w ramach programu Współpracy z V Liceum Ogólnokształcącym w Krakowie (lata 2014 i 2015) oraz eksperymentalnych zajęć transmitowanych przez Internet do szkół średnich w ramach programu Małopolska Chmura Edukacyjna (2015). W latach 2013 i 2015 przygotowywałem i prowadziłem również zajęcia w ramach Uniwersytetu Dziecięcego.

Brałem również aktywny udział w organizacji i prowadzeniu Małopolskiej Nocy Naukowców w latach 2013-2015, w roku 2015 pełniąc funkcję koordynatora instytutowego w Instytucie Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. W latach 2008-2012 pełniłem funkcję przedstawiciela niesamodzielnymi nauczycieli akademickich w Radzie Instytutu Zoologii UJ. Obecnie uczestniczę jako członek w pracach Komisji ds. Dydaktycznych i Studenckich Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie (kadencja 2016-2020).

Mój dorobek popularyzatorski obejmuje również trzy artykuły przeglądowe w czasopiśmie *Wszechświat* (OSIKOWSKI 1998; OSIKOWSKI I HOFMAN 2005; HOFMAN I OSIKOWSKI 2005), jeden w czasopiśmie *Przegląd Zoologiczny* (OSIKOWSKI 2007b), a także autorstwo ok. 250 haseł z dziedziny anatomii w *Encyklopedii Powszechnej* 8-tomowej (OSIKOWSKI 2002).

## **7. Literatura**

- AVISE JC. 2000. Phylogeography, the history and formation of species. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- BENKE M, BRANDLE M, ALBRECHT C, WILKE T. 2011. Patterns of freshwater biodiversity in Europe: lessons from the spring snail genus *Bythinella*. *J. Biogeogr.* 38: 2021–2032.
- BERAN L, OSIKOWSKI A, HOFMAN S, FALNIOWSKI A. 2016. *Islamia zermanica* (Radoman, 1973) (Caenogastropoda: Hydrobiidae): morphological and molecular distinctness. *Folia Malacol.* 24: 25–30.
- BICHAIN JM, GAUBERT P, SAMADI S, BOISSELIER-DUBAYLE MC. 2007. A gleam in the dark: Phylogenetic species delimitation in the confusing spring-snail genus *Bythinella* Moquin-Tandon, 1856 (Gastropoda: Risssooidea: Amnicolidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 45: 927–941.
- CLAUZON G, SUC J-P, POPESCU S-M, MARUNTEANU M, RUBINO J-L, MARINESCU F, MELINTE MC. 2005. Influence of Mediterranean sea-level changes on the Dacic Basin (Eastern Paratethys) during the late Neogene: the Mediterranean Lago Mare facies deciphered. *Basin Research* 17: 437–462.
- CREUTZBURG N. 1963. Palaeogeographic evolution of Crete from Miocene till our days. *Cretan Annals* 15(16): 336–342.
- DERMITZAKIS DM, PAPANIKOLAOU DJ. 1981. Paleogeography and geodynamics of the Aegean region during the Neogene. *Annales Géologiques des Pays Helléniques* 30: 245–289.
- FALNIOWSKI A. 1987. Hydrobioidea of Poland (Prosobranchia: Gastropoda). *Folia Malacol.* 1: 1–122.
- FALNIOWSKI A, SZAROWSKA M. 2000. A new species of *Daphniola* Radoman, 1973 (Gastropoda: Hydrobiidae) from Greece. *Folia Malacol.* 8: 181–188.
- FALNIOWSKI A, HORSACK M, SZAROWSKA M. 2009a. *Bythinella hansboetersi* Glöer et Pešić, 2006 (Gastropoda: Risssooidea) in Bulgaria: its morphology, molecular distinctness, and phylogeography. *Folia Malacol.* 17: 11–20.
- FALNIOWSKI A, SZAROWSKA M, SIRBU I. 2009b. *Bythinella* Moquin-Tandon, 1856 (Gastropoda: Risssooidea: Bythinellidae) in Romania: species richness in a glacial refugium. *J. Nat. Hist.* 43: 2955–2973.
- FALNIOWSKI A, GEORGIEV D, OSIKOWSKI A, HOFMAN S. 2016. Radiation of *Grossuana* Radoman, 1973 (Caenogastropoda: Truncatelloidea) in the Balkans. *J. Mollus. Stud.* 82: 305–313.



- GARCIA-CASTELLANOS D, ESTRADA F, JIMÉNEZ-MUNT I, GORINI C, FERNÁNDEZ M, VERGÉS J, DE VICENTE R. 2009. Catastrophic flood of the Mediterranean after the Messinian salinity crisis. *Nature* 462: 778–781.
- GEORGIEV D, OSIKOWSKI A, HOFMAN S, RYSIEWSKA A, FALNIOWSKI A. 2017. Contribution to the morphology of the Bulgarian stygobiont Truncatelloidea (Caenogastropoda). *Folia Malacol.* 25: 15-25.
- HIEBAUM G. 2010. Hydrochemistry of Pomoriisko Lake. W: RADEV R, HIEBAUM G, MICHEV T, PROFIROV L. (Red). Proceedings of the Integrated Management Plan for Protected Area “Pomorie Lake” BG0000152 and Protected Area “Pomorie” BG0000620, Green Balkans, Plovdiv, str. 32–47.
- HOFMAN S, OSIKOWSKI A. 2005. Płazy nie gęsi. *Wszechświat.* 106: 92–95.
- HOFMAN S, PABIJAN M, OSIKOWSKI A, SZYMURA JM. 2016a. Complete mitochondrial genome of the Greek marsh frog *Pelophylax cretensis* (Anura, Ranidae). *Mitochondrial DNA Part A.* 27 (3): 1995–1996.
- HOFMAN S, PABIJAN M, OSIKOWSKI A, LITVINCHUK SN, SZYMURA JM. 2016b. Phylogenetic relationships among four new complete mitogenome sequences of *Pelophylax* (Amphibia: Anura) from the Balkans and Cyprus. *Mitochondrial DNA Part A.* 27 (5): 3434–3437.
- JUAN C, GUZIK MT, JAUME D, COOPER SJB. 2010. Evolution in caves: Darwin’s ‘wrecks of ancient life’ in the molecular era. *Mol. Ecol.* 19: 3865–3880.
- KOUGIOUMOUTZIS K, SIMAIAKIS SM, TINIAKOU A. 2014. Network biogeographical analysis of the central Aegean archipelago. *J. Biogeogr.* 41: 1848–1858.
- LYMBERAKIS P, POULAKAKIS N. 2010. Three continents claiming an Archipelago: The evolution of Aegean’s herpetofaunal diversity. *Diversity* 2: 233–255.
- OSIKOWSKI A. 1998. Ryby śpiewają nie tylko w Ukajali. *Wszechświat.* 98: 280–283.
- OSIKOWSKI A, RAFIŃSKI J. 2001. Multiple insemination increases reproductive success of female Montandon's newt (*Triturus montandoni*, Caudata, Salamandridae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 49:145–149.
- OSIKOWSKI A. 2002. Encyklopedia powszechna 8-tomowa. Wyd. Kluszczyński. Autorstwo ok. 250 haseł z dziedziny „Anatomia”.
- OSIKOWSKI A, HOFMAN S. 2005. Krajowe płazy bezogonowe. *Wszechświat.* 106: 95–99.
- OSIKOWSKI A. 2007a. Sperm transport after insemination in the Alpine newt (*Triturus alpestris*, Caudata, Salamandridae). *Folia biologica (Kraków)* 55: 109–114.

- OSIKOWSKI A.** 2007b. Feromony godowe płazów ogoniastych (Caudata). *Przegląd Zoologiczny* 51(1–2): 39–46.
- OSIKOWSKI A, BABIK W, GRZMIL P, SZYMURA JM.** 2008. Multiple sex pheromones are expressed in the abdominal glands of the smooth newt (*Lissotriton vulgaris*) and the Carpathian newt (*L. montandoni*) (Salamandridae). *Zool. Sci.* 25: 587–592.
- OSIKOWSKI A.** 2012. Asymmetric female preferences for courtship pheromones in two closely related newt species, the smooth newt (*Lissotriton vulgaris*) and the Carpathian newt (*L. montandoni*) (Salamandridae). *Zool. Sci.* 29: 390–395.
- OSIKOWSKI A, CIERNIAK-ZUZIA K.** 2013. Cloacal anatomy of the male Carpathian newt, *Lissotriton montandoni* (Amphibia, Salamandridae), in the breeding season. *Zool. Sci.* 30(9):748–753.
- OSIKOWSKI A.** 2014. Zimowanie larw traszki górskiej w Gorcach. *Chrońmy Przyrodę Ojczyznę* 70(1): 79–82.
- OSIKOWSKI A, GEORGIEV D, HOFMAN S, FALNIOWSKI A.** 2015. Does the genetic structure of spring snail *Bythinella* (Caenogastropoda, Truncatelloidea) in Bulgaria reflect geological history? *ZooKeys* 25(518): 67–86.
- OSIKOWSKI A, HOFMAN S, GEORGIEV D, KALCHEVA S, FALNIOWSKI A.** 2016. Aquatic snails *Ecrobia maritima* (Milaschewitsch, 1916) and *E. ventrosa* (Montagu, 1803) (Caenogastropoda: Hydrobiidae) in the East Mediterranean and Black Sea. *Ann. Zool.* 66: 477–486.
- OSIKOWSKI A, HOFMAN S, GEORGIEV D, RYSIEWSKA A, FALNIOWSKI A.** 2017. Unique, ancient stygobiont clade of Hydrobiidae (Truncatelloidea) in Bulgaria: the origin of cave fauna. *Folia Biologica (Krakow)*. 65: 79–93.
- OSIKOWSKI A.** 2017. Isolation as a phylogeny-shaping factor: historical geology and cave habitats in the Mediterranean Truncatelloidea Gray, 1840 (Caenogastropoda). *Folia Malacol.* <https://doi.org/10.12657/folmal.025.015>
- RADEA C, PARMAKELIS A, PAPADOGIANNIS V, CHAROU D, TRIANTIS K. A.** 2013. The hydrobioid freshwater gastropods (Caenogastropoda, Truncatelloidea) of Greece: new records, taxonomic reassessments using DNA sequence data and an update of the IUCN Red List Categories. *ZooKeys* 350: 1–20.
- RAFIŃSKI J, OSIKOWSKI A.** 2002. Sperm mixing in the Alpine newt (*Triturus alpestris*). *Canad. J. Zool.* 80: 1293–1298.

- RYSIEWSKA A, GEORGIEV D, **OSIKOWSKI A**, HOFMAN S, FALNIOWSKI A. 2016. *Pontobelgrandiella* Radoman, 1973 (Caenogastropoda: Hydrobiidae): a recent invader of subterranean waters. *J. Conchol.* 42: 193–203.
- RYSIEWSKA A, PREVORČNIK S, OSIKOWSKI A, HOFMAN S, BERAN L, FALNIOWSKI A. 2017. Phylogenetic relationships in *Kerkia* and introgression between *Hauffenia* and *Kerkia* (Caenogastropoda: Hydrobiidae). *J. Zool. Sys. Evol. Res.* 55(2): 106–117.
- SEVER DM, VERRELL PA, HALLIDAY TR, GRIFFITHS M, WAIGHTS V. 1990. The cloaca and cloacal glands of the male smooth newt, *Triturus vulgaris vulgaris* (Linnaeus), with special emphasis on the dorsal gland. *Herpetologica* 46(2): 160–168.
- SUC J-P, DO COUTO D, CARMEN MELINTE-DOBRESCU M, MACALEȚ R, QUILLÉVÉRÉ F, CLAUZON G, CSATO I, RUBINO J-L, POPESCU S-M. 2011. The Messinian Salinity Crisis in the Dacic Basin (SW Romania) and early Zanclean Mediterranean-Paratethys high sea-level connection. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 310: 256–272.
- SZAROWSKA M, HOFMAN S, **OSIKOWSKI A**, FALNIOWSKI A. 2014a. *Pseudorientalia* Radoman, 1973 (Caenogastropoda: Rissoidea) on Samos Island, Aegean Sea. *Folia Malacol.* 22: 11–20.
- SZAROWSKA M, HOFMAN S, **OSIKOWSKI A**, FALNIOWSKI A. 2014b. Divergence preceding Island formation among Aegean insular populations of the freshwater snail genus *Pseudorientalia* (Caenogastropoda: Truncatelloidea). *Zool. Sci.* 31: 680–686.
- SZAROWSKA M, HOFMAN S, **OSIKOWSKI A**, FALNIOWSKI A. 2014c. *Heleobia maltzani* (Westerlund, 1886) (Caenogastropoda: Truncatelloidea: Cochliopidae) from Crete and species-level diversity of *Heleobia* Stimpson, 1865 in Europe. *J. Nat. Hist.* 48: 2487–2500.
- SZAROWSKA M, HOFMAN S, **OSIKOWSKI A**, FALNIOWSKI A. 2014d. *Daphniola* Radoman, 1973 (Caenogastropoda: Truncatelloidea) at East Aegean Island. *Folia Malacol.* 22: 269–275.
- SZAROWSKA M, **OSIKOWSKI A**, HOFMAN S, FALNIOWSKI A. 2016a. *Pseudamnicola* Paulucci, 1878 (Caenogastropoda: Truncatelloidea) from the Aegean Islands: a long or short story? *Org. Divers. Evol.* 16: 121–139.
- SZAROWSKA M, **OSIKOWSKI A**, HOFMAN S, FALNIOWSKI A. 2016b. Do diversity patterns of the spring-inhabiting snail *Bythinella* (Gastropoda, Bythinellidae) on the Aegean Islands reflect geological history? *Hydrobiologia* 765: 225–243.

ŚLIWIŃSKA EB, WITEK M, SKÓRKA P, **OSIKOWSKI A**, WOYCIECHOWSKI M. 2008. The frequency of multiple paternity in *Myrmica scabrinodis* from southern Poland. *Entomol. Sci.* 11(1): 127–129.

ZAGORCHEV I. 2007. Late Cenozoic development of the Strouma and Mesta fluviolacustrine systems, SW Bulgaria and northern Greece. *Quat. Sci. Rev.* 26: 2783–2800.



Dr Artur Osikowski

Kraków, 20.11.2017