

My PhD thesis unveils traits of Ponto-Caspian amphipod species which have an impact on their behaviour and their ability for competition. Ecological experiments presented here shed the new light on interactions between invasive amphipods and allowed to broaden knowledge about possible mechanisms modulating the rate of the invasion process. Thus, studied amphipod species are capable to distinguish chemical stimuli produced by related species and in a consequence, they reduce the risk competition. Furthermore, my thesis provides that negative interactions may be a factor that gives an impulse for acceleration of the invasion process. It happens when weaker competitors are forced to move to other, less preferable or new microhabitats.

## SUMMARY

Animal dispersion is a natural phenomenon occurring worldwide and constantly. This process finally leads to gene flow and, apart from fitness consequences for the individual, changes in population characteristics take place. Population dynamics are considered as overriding determinants of species distribution. In recent decades, however, there is growing attention to species movement beyond their natural range, enhanced often by side effects of human activities. Uncontrolled species movements outside their natural range of occurrence often lead to biological invasions, which constitute a great threat to biodiversity e.g. due to biotic homogenization. In my research, I have focused on the case of three successful invasive Ponto-Caspian amphipod species – *Dikerogammarus villosus*, *Dikerogammarus haemobaphes* and *Pontogammarus robustoides*. The ultimate goal of this thesis was to investigate possible agents which on one hand can facilitate further invasion, but on the other hand can maintain a stable coexistence within invaded areas. Thus, the following questions were answered: (1) do the physical contact, which leads to the interference competition, influences the dispersal of weaker competitors? (chapter 1); (2) Can the temperature be an agent determining spatial segregation of the studied species and provide conditions for their coexistence? (chapter 2); (3) do the microsporidian parasites influence the thermal preferences of their host, which in result may stabilize the host coexistence? (chapter 2); (4) does the chemical signalling allow to avoid stronger competitors, and in a result prevent interference competition? (chapter 3).

Results of the study presented in chapter 1 (Conquerors or exiles? Impact of interference competition among invasive Ponto-Caspian gammarideans on their dispersal rates. Kobak J., Rachalewski M., Bączela-Spychalska K. 2016. Biological Invasions 18:1953–1965) showed that

spatial distribution on the microhabitat scale is a result of inter- and intraspecific interactions. Experiments on three Ponto- Caspian species – *D. villosus*, *D. haemobaphes* and *P. robustoides* clearly showed their tendencies for spontaneous and induced migration. *P. robustoides* showed the highest affinity for spontaneous migration. Such highly explorative tendencies of this species can be explained by its tendency for searching microhabitats which are free of other, stronger competitors. Indeed, *P. robustoides* is characterized by having the widest spectrum of preferred microhabitats, whereas occurrence of other *Dikerogammarus* species is limited rather to large grain substrata or mussel beds. Both *D. villosus* and *D. haemobaphes* were less explorative than *P. robustoides*, which can be explained by their high affinity to defend a presently occupied shelter. Out of all species tested in this experiment, *D. villosus* appeared to be the strongest competitor capable of displacing the other species. Its highly aggressive behaviour along with effective defence of an occupied habitat resulted in pushing weaker competitors towards less preferable habitats. Chapter 1 enriches the knowledge on the role of interference competition and points it as one of the important agents determining induced migration and, in a result, further expansion of amphipods to novel habitats.

In chapter 2 (Some like it hot: Factors impacting thermal preferences of two Ponto-Caspian amphipods *Dikerogammarus villosus* (Sovinsky, 1894) and *Dikerogammarus haemobaphes* (Eichwald, 1841). Rachalewski M., Kobak J., Szczerkowska-Majchrzak E., Baćela-Spychalska K. 2018. PeerJ 6:e4871 DOI 10.7717/peerj.4871), an experiment on thermal preferences of *D. villosus* and *D. haemobaphes* were tested. Amphipods are poikilothermic animals and their activity predominantly relies on the surrounding temperature. In consequence, this agent determines the population dynamics by influencing maturation time and breeding period. Thus, it influences the condition of the population and may restrict its potential for further invasion. Elevated temperature is beneficial for growth and development, but as the metabolic rate rises, the consumption of oxygen increases. On the other hand, as the temperature rises, the availability of oxygen decreases. Thus, temperature-based habitat selection must be a trade-off between acceleration of maturation and energy expenditure related to higher metabolic demands. The results of the experiment performed in chapter 2 showed that both studied *Dikerogammarus* species differed in their thermal preferences. *D. villosus* expressed a strategy of selecting the highest available temperature in an experimental tank, whereas *D. haemobaphes* tended to avoid extreme temperatures and preferred to stay in intermediate ones. Apart from temperature as habitat-selection factor, the presence of microsporidia parasites was incorporated in this study. There were two premises which suggested linking of those factors

into one experiment. First of all, microsporidiosis may cause far-reaching changes in the host behaviour including increase in activity or in contrast, movement impairment. Secondly, the development of the disease is linked to temperature and an infected host individual may express either anapyrexia or behavioural fever to cope with the disease. Eventually, it may influence ability for migration. The only case where microsporidia influenced thermal preference of their host was spotted in males of *D. villosus*. Uninfected individuals tended to stay at lower temperatures than infected ones. There are two possible explanations for this result. It is either an action of a parasite, or a defence mechanism of a host. The answer is however speculative and clear statement cannot be posted until more extensive studies will be performed on this topic. Nevertheless, the results presented in chapter 2 explain that coexistence of both *Dikerogammarus* species is possible as long as microhabitats with different thermal regimes are available nearby.

The ability to detect chemical signals secreted by other amphipods was tested in chapter 3 (Friends or enemies? Chemical recognition and reciprocal responses among invasive Ponto-Caspian amphipods. Rachalewski M., Jermacz Ł., Bączela-Spychalska K., Podgórska M., Kobak J. in press. Aquatic Invasions 14). This is a factor that can possibly shape the coexistence of *D. villosus*, *D. haemobaphes* and *P. robustoides*. Chemical communication is common in aquatic ecosystems and constitutes a significant source of acquiring information about surroundings, potential threat, availability of food patches or in case of intraspecific signalling – finding a sexually receptive mate. Furthermore, detection of such stimulants may determine species composition, population dynamics and finally – migratory tendencies which were studied in chapter 1. This study is the first one, up to date which tested the ability of scent recognition in Ponto-Caspian amphipods. The results showed that all species were able to distinguish scents of one another. This suggests that interspecific chemical communication exists between tested species. The scent of *D. villosus* was interpreted by all studied animals as a threat. This outcome confirms the results of the first study (chapter 1) presented in this thesis – *Dikerogammarus villosus* is not only an effective competitor but also is perceived as such by other, weaker species. Interestingly, *D. villosus* tended to avoid scent of its conspecifics which could be explained by avoidance of equally strong competitors (intraspecific competition is stronger than interspecific), which may result in cannibalistic behaviour which is relatively common in this species. Ability of odour recognition can finally lead for interaction avoidance which as a result can facilitate coexistence in a long run.

The final conclusion of this thesis is the fact that negative interactions, thermal preferences and chemical signalling are significant agents influencing the co-existence of the studied species. It was shown that different temperature preferences can stabilize co-existence whereas competition and odour recognition can be considered as agents capable of enhancing the invasion process by forcing weaker competitor to migrate.

Michał Pscholtz

## STRESZCZENIE

Dyspersja jest naturalnym, powszechnym i ciągłym zjawiskiem w świecie zwierzęcym, które w efekcie prowadzi do przepływu genów i wpływa na kondycję i dynamikę populacji. Dynamika populacji jest jednym z kluczowych determinantów wpływających na rozmieszczenie gatunków w przestrzeni. W ciągu ostatnich dekad dyspersja gatunków inwazyjnych stała się jednym z ważniejszych tematów badań ekologów środowiskowych. Inwazje biologiczne mają szczególną dynamikę, bowiem działalność człowieka umożliwiła ten proces. Jedną z bardziej dotkliwych konsekwencji inwazji biologicznych jest spadek bioróżnorodności, między innymi poprzez homogenizację składu gatunkowego. W mojej rozprawie doktorskiej skupiłem się na przypadku trzech gatunków kielży ponto-kaspijskich, które stanowią modelowy przykład na sukces inwazji – *Dikerogammarus villosus*, *Dikerogammarus haemobaphes*, *Pontogammarus robustoides*. Nadrzędnym celem niniejszej rozprawy doktorskiej było zbadanie czynników, które z jednej strony mogą sprzyjać dalszemu procesowi inwazji, z drugiej zaś mogą wpływać na utrzymanie równowagi i możliwość współwystępowania badanych gatunków w nowo zajętych ekosystemach. W pracy postawiono pytania:

- (1) Czy w wyniku konkurencji międzygatunkowej słabsi konkurenci ulegają dyspersji? (rozdział 1)
- (2) Czy temperatura może być czynnikiem wpływającym na rozmieszczenie gatunków w przestrzeni i zapewniać warunki do współwystępowania? (rozdział 2)
- (3) Czy mikrosporydia zmieniają preferencje termiczne swoich żywicieli (badanych gatunków kielży) i w ten sposób wpływają na ich zdolność do współwystępowania? (rozdział 2)
- (4) Czy na drodze sygnałów chemicznych badane gatunki mają zdolność do wzajemnego rozpoznawania się i w efekcie unikania silniejszego konkurenta? (rozdział 3)

Wyniki badań przedstawionych w rozdziale 1 (Conquerors or exiles? Impact of interference competition among invasive Ponto-Caspian gammarideans on their dispersal rates. Kobak J., Rachalewski M., Bącela-Spychalska K. 2016. Biological Invasions 18:1953–1965) pokazały, że rozmieszczenie gatunków w skali mikrohabitatatu jest wynikiem konkurencji wewnątrz- i międzygatunkowej. Przeprowadzone eksperymenty na trzech gatunkach kielży

pontokaspjskich – *D. villosus*, *D. haemobaphes* i *P. robustoides* wykazały ich zdolność do dyspersji spontanicznej oraz tej, indukowanej obecnością konkurenta. *P. robustoides*, spośród badanych gatunków wykazał się największą zdolnością do dyspersji spontanicznej. Ten wynik może wskazywać na tendencję przedstawicieli tego gatunku do poszukiwania mikrohabitatów wolnych od innych, silniejszych konkurentów. *Pontogammarus robustoides* wykazuje szerokie spektrum preferencji względem siedliska, podczas gdy występowanie gatunków z rodzaju *Dikerogammarus* ogranicza się zwykle do kamienistego podłoża lub przestrzeni między muszlami racicznicy zmiennej. Zarówno *D. haemobaphes* jak i *D. villosus* posiadały znacznie mniejszą tendencję do eksploracji przestrzeni eksperymentalnej, co można wyjaśnić silnym przywiązaniem i obroną zajmowanych przez siebie siedlisk. Spośród wszystkich badanych gatunków *D. villosus* okazał się najsilniejszym z konkurentów, zdolnym do wypierania pozostałych gatunków. Jego agresja połączona z silnym przywiązaniem do zajmowanego schronienia sprawiała, że zmuszał słabszych konkurentów do ustąpienia i zmiany mikrohabitatu na mniej preferowany. Rozdział 1 wzbogaca wiedzę o znaczeniu konkurencji międzygatunkowej i wskazuje, że ten typ interakcji odgrywa znaczącą rolę w dyspersji innych gatunków. Indukowana dyspersja słabszych gatunków może prowadzić do ich migracji do nowych siedlisk, a więc do dalszej inwazji.

W rozdziale 2 (Some like it hot: Factors impacting thermal preferences of two Ponto-Caspian amphipods *Dikerogammarus villosus* (Sovinsky, 1894) and *Dikerogammarus haemobaphes* (Eichwald, 1841). Rachalewski M., Kobak J., Szczerkowska-Majchrzak E., Bącela-Spychalska K. 2018. PeerJ 6:e4871 DOI 10.7717/peerj.4871) zbadano preferencje termiczne *D. villosus* i *D. haemobaphes*. Obunogi są organizmami zmiennocieplnymi, a więc ich aktywność i rozwój zależą w znacznej mierze od temperatury środowiska, w którym się znajdują. Czynnikiem ten ma istotny wpływ na dynamikę populacji, wyznaczając czas rozrodu czy czas osiągnięcia dojrzałości płciowej. Temperatura środowiska determinuje to, w jakiej kondycji jest populacja, a więc w znaczący sposób może wpływać na jej potencjał do dalszej inwazji. Podwyższona temperatura sprzyja osobniczemu wzrostowi i rozwojowi, ale wraz ze zwiększonym tempem metabolizmu, wzrasta również zapotrzebowanie na tlen, jednakże w wyższej temperaturze jego dostępność spada. Wybór siedliska w oparciu o jego warunki termiczne musi być więc wynikiem kompromisu między zwiększonym tempem dojrzewania i wzrostu, a zapotrzebowaniem energetycznym i tlenowym związanym ze zwiększonym tempem metabolizmu. Wyniki przedstawione w rozdziale 2 wykazały różnice w preferencjach termicznych obydwu badanych gatunków kielży. *Dikerogammarus villosus* wykazał się

strategią polegającą na wyborze siedliska z możliwie najwyższą dostępną temperaturą, podczas gdy *D. haemobaphes* unikał miejsc o skrajnych wartościach temperaturowych i przebywał w okolicach średniej z dostępnego w eksperymentach zakresu. Poza temperaturą jako czynnikiem wpływającym na wybór siedliska, zbadano również rolę pasożytów – mikrosporydiów jako czynnika determinującego wybór preferowanej temperatury przez ich gospodarzy – kielży. Dwie przesłanki stały za tym, aby połączyć czynnik temperatury i pasożyta w prowadzonym eksperymencie. Pierwszą z nich był fakt, że mikrosporydia mogą powodować daleko idące zmiany w zachowaniu swoich gospodarzy powodując zwiększenie ich aktywności lub przeciwnie – wywołując upośledzenie ruchowe. Drugą przesłanką był fakt, iż rozwój choroby wywołanej przez mikrosporydia wiąże się z temperaturą, toteż u zainfekowanych osobników kielży może występować gorączka behawioralna lub anapireksja, których celem jest zwalczenie lub zahamowanie choroby. W rezultacie, może mieć to wpływ na zdolność kielży do dyspersji. Tylko w jednym wypadku stwierdzono wpływ mikrosporydiów na preferencje temperaturowe kielży. Niezainfekowane samce *D. villosus* przebywały w niższych temperaturach niż zainfekowane. Istnieją dwa, równie prawdopodobne wyjaśnienia dla tej obserwacji. Rezultat ten mógł być wynikiem działalności pasożyta lub efektem mechanizmu obronnego gospodarza. Odpowiedź, który był to mechanizm byłaby jednak spekulacją i konieczne jest przeprowadzenie większej liczby badań. Niemniej jednak, wyniki przedstawione w rozdziale 2 wyjaśniają, że współwystępowanie obydwu gatunków z rodzaju *Dikerogammarus* jest możliwe, pod warunkiem występowania wyraźnych różnic temperaturowych w obrębie siedliska.

W rozdziale 3 (Friends or enemies? Chemical recognition and reciprocal responses among invasive Ponto-Caspian amphipods. Rachalewski M., Jermacz Ł., Bącela-Spychalska K., Podgórska M., Kobak J. in press. Aquatic Invasions 14) zbadano zdolność do wzajemnego odbierania sygnałów chemicznych wydzielanych przez trzy gatunki kielży – *D. villosus*, *D. haemobaphes* i *P. robustoides*. Zdolność do odbierania i interpretacji sygnałów chemicznych może mieć wpływ na współwystępowanie tych gatunków. Komunikacja oparta na tego rodzaju sygnałach powszechnie występuje w wodnych ekosystemach i pozwala na odbiór informacji o środowisku, w którym znajduje się organizm: o obecności zagrożenia, dostępności pożywienia, a w przypadku wewnątrzgatunkowej komunikacji – pozwala na odnalezienie partnerów zdolnych do reprodukcji. Detekcja sygnałów chemicznych może mieć wpływ na skład gatunkowy w siedlisku, wpływać na dynamikę populacji, a także wywoływać dyspersję, którą zbadano w rozdziale 1 niniejszej rozprawy. Badania przedstawione w rozdziale 3 są pierwszymi

tego typu, w których badano zdolność do rozróżniania sygnałów chemicznych u kielży ponto-kaspijskich. Wyniki wykazały, że wszystkie badane gatunki kielży mają zdolność do rozróżniania wzajemnych sygnałów chemicznych. Sygnały *D. villosus* były interpretowane przez pozostałe badane gatunki jako zagrożenie. Wynik ten potwierdza wyniki z rozdziału 1, ukazując, że *D. villosus* jest nie tylko silniejszym konkurentem, ale jest jako taki odbierany przez pozostałe, słabsze gatunki. Co ciekawe, osobniki *D. villosus* również unikały sygnałów przedstawicieli tego samego gatunku, co pozwala twierdzić, że unikały równie silnych konkurentów – konkurencja wewnątrzgatunkowa jest silniejsza od międzygatunkowej. Unikanie sygnałów tego samego gatunku to prawdopodobnie efekt tego, że u *D. villosus* występuje dość powszechnie zjawisko kanibalizmu.

Konkluzją z przeprowadzonych przeze mnie badań jest to, że spośród wszystkich badanych czynników mogących potencjalnie wpływać na zachowanie badanych gatunków kielży, wszystkie okazały się w tym istotne. Czynniki te modyfikują interakcje między badanymi gatunkami oraz wpływają na zdolność do współwystępowania gatunków. Badania wskazały, że temperatura jest czynnikiem mogącym skutecznie wpływać na zdolność gatunków do współwystępowania na tym samym obszarze, ale w obrębie niepokrywających się nisz określonych poprzez temperaturę. Zdolność do interpretacji sygnałów chemicznych oraz konkurencja międzygatunkowa są czynnikami, które mogą sprzyjać inwazji, poprzez zintensyfikowanie migracji u słabszych konkurentów.

Michał Rechelewski