

AUTOREFERAT

dr ŁUKASZ MICHALCZYK

Zakład Entomologii
Instytut Zoologii
Uniwersytet Jagielloński



Kraków, grudzień 2016

1. Imię i Nazwisko

ŁUKASZ KONRAD MICHALCZYK

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

- **1999–2004:** Jednolite **studia magisterskie** na kierunku biologia, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Polska. Badania do pracy magisterskiej wykonane w School of Biology, University of St. Andrews (St. Andrews, Szkocja, Zjednoczone Królestwo), pod opieką dra JOSEPHA L. TOMKINSA, a praca magisterska została napisana i obroniona w Instytucie Nauk o Środowisku UJ, pod opieką dra hab. JACKA RADWANA. Praca magisterska: “Quantifying the fitness functions of males with alternative tactics in the acarid mite *Sancassania berlesei*: a test of the status-dependent ESS model” (praca w języku angielskim); recenzent i egzaminator: prof. dr hab. ADAM ŁOMNICKI (INoŚ UJ). Uzyskany **tytuł zawodowy magistra biologii ogólnej (15.06.2004)**.
- **2004–2009:** **Studia doktoranckie** w School of Biological Sciences, University of East Anglia, Norwich, Anglia, Zjednoczone Królestwo, pod kierunkiem dra MATTHEW GAGE’A i dra BRENTA EMERSONA. Praca doktorska: “Sexual selection and reproductive compatibility in *Tribolium castaneum*” (praca w języku angielskim); recenzenci i egzaminatorzy: dr TRACEY CHAPMAN (UEA, Zjednoczone Królestwo) oraz dr TOM TREGENZA (University of Exeter, Zjednoczone Królestwo). Uzyskany **stopień naukowy doktora (PhD) biologii ewolucyjnej (15.07.2009)**.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- **2009–2012:** Senior Research Associate, University of East Anglia, School of Biological Sciences, Norwich, Anglia, Zjednoczone Królestwo.
- **2012–2014:** Asystent naukowy, Uniwersytet Jagielloński, Instytut Zoologii, Zakład Entomologii, Kraków, Polska.
- **2014–obecnie:** Adiunkt naukowo-dydaktyczny, Uniwersytet Jagielloński, Instytut Zoologii, Zakład Entomologii, Kraków, Polska.

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

DETERMINANTY ZMIENNOŚCI WEWNĄTRZGATUNKOWEJ W CECHACH TAKSONOMICZNYCH NIESPORCZAKÓW (TARDIGRADA).

b. autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy

W Tabeli 1 poniżej znajduje się lista pięciu publikacji wchodzących w skład mojego osiągnięcia habilitacyjnego wraz z określeniem wkładu i udziału procentowego w każdą z prac, a także pięcioletni *Impact Factor* (z roku 2015) i aktualna punktacja MNiSW czasopism oraz liczba cytowań wg *Web of Science™ Core Collection* (stan na 31.12.2016).

Tabela 1. Zestawienie publikacji wchodzących w skład mojego osiągnięcia habilitacyjnego. We wszystkich publikacjach jestem autorem wiodącym (ostatnim i korespondencyjnym).

N	Publikacja	IF ₅	MNiSW	Cytacje
I	<p>STEC, D., MOREK, W., GAŚIOREK, P., KACZMAREK, Ł. & MICHALCZYK, Ł. (2016) Determinants and taxonomic consequences of extreme egg shell variability in <i>Ramazzottius subanomalous</i> (Biserov, 1985) (Tardigrada). Zootaxa, 4208(2): 176–188.</p> <p><i>Mój wkład obejmował:</i> • stworzenie koncepcji badań • zdobycie funduszy na badania • zaplanowanie badań (w tym zaprojektowanie eksperymentów oraz starterów DNA) • stworzenie zespołu prowadzącego badania i zarządzanie nim • nadzorowanie wszystkich etapów badań • analizę danych • interpretację wyników • opracowanie graficzne • napisanie maszynopisu • ustosunkowanie się do recenzji • korektę drukarską.</p> <p><i>Mój udział procentowy szacuję na 55%</i></p>	0.910	20	3
II	<p>MOREK, W., GAŚIOREK, P., STEC, D., BLAGDEN, B. & MICHALCZYK, Ł. (2016) Experimental taxonomy exposes ontogenetic variability and elucidates the taxonomic value of claw configuration in <i>Milnesium</i> Doyère, 1840 (Tardigrada: Eutardigrada: Apochela). Contributions to Zoology, 85(2): 173–200.</p> <p><i>Mój wkład obejmował:</i> • stworzenie koncepcji badań • zdobycie funduszy na badania • zaplanowanie badań (w tym zaprojektowanie trzech alternatywnych metod detekcji zmienności ontogenetycznej) • stworzenie zespołu prowadzącego badania i zarządzanie nim • nadzorowanie wszystkich etapów badań • analizę danych • interpretację wyników • opracowanie graficzne • napisanie maszynopisu • ustosunkowanie się do recenzji • korektę drukarską.</p> <p><i>Mój udział procentowy szacuję na 55%</i></p>	2.325	40	8

N	Publikacja	IF ₅	MNiSW	Cytacje
III	<p>KOSZTYŁA, P., STEC, D., MOREK, W., GAŚIOREK, P., ZAWIERUCHA, Z., MICHNO, K., MAŁEK, D., HLEBOWICZ, K., UFIR, K., LASKA, A., DUDZIAK, M., FROHME, M., PROKOP, Z.M., KACZMAREK, Ł. & <u>MICHALCZYK, Ł.</u> (2016) Experimental taxonomy confirms the environmental stability of morphometric traits in a taxonomically challenging group of microinvertebrates. Zoological Journal of the Linnean Society, 178(4): 765–775.</p> <p><i>Mój wkład obejmował:</i> • udział w stworzeniu koncepcji badań • zdobycie funduszy na badania • zaplanowanie badań (w tym zaprojektowanie eksperymentów i wybór gatunków modelowych) • stworzenie zespołu prowadzącego badania i zarządzanie nim • nadzorowanie wszystkich etapów badań • przygotowanie danych do analizy • analizę danych (z wyłączeniem analizy w programie R) • interpretację wyników • opracowanie graficzne • napisanie maszynopisu • ustosunkowanie się do recenzji • korektę drukarską.</p> <p><i>Mój udział procentowy szacuję na 50%</i></p>	2.717	40	4
IV	<p>MOREK, W., STEC, D., GAŚIOREK, P., SCHILL, R.O., KACZMAREK, Ł. & <u>MICHALCZYK, Ł.</u> (2016) An experimental test of eutardigrade preparation methods for light microscopy. Zoological Journal of the Linnean Society, 178(4): 785–793.</p> <p><i>Mój wkład obejmował:</i> • stworzenie koncepcji badań • zdobycie funduszy na badania • zaplanowanie badań (w tym wybór gatunku modelowego i zaprojektowanie eksperymentów) • stworzenie zespołu prowadzącego badania i zarządzanie nim • nadzorowanie wszystkich etapów badań • analizę danych • interpretację wyników • opracowanie graficzne • napisanie maszynopisu • ustosunkowanie się do recenzji • korektę drukarską.</p> <p><i>Mój udział procentowy szacuję na 65%</i></p>	2.717	40	5
V	<p>STEC, D., GAŚIOREK, P., MOREK, W., KOSZTYŁA, P., ZAWIERUCHA, K., MICHNO, K., KACZMAREK, Ł., PROKOP, Z.M. & <u>MICHALCZYK, Ł.</u> (2016) Estimating optimal sample size for tardigrade morphometry. Zoological Journal of the Linnean Society, 178(4): 776–784.</p> <p><i>Mój wkład obejmował:</i> • stworzenie koncepcji badań • zdobycie funduszy na badania • zaplanowanie badań (w tym określenie zasad działania algorytmu) • stworzenie zespołu prowadzącego badania i zarządzanie nim • nadzorowanie wszystkich etapów badań • przygotowanie danych do analizy • interpretację wyników • opracowanie graficzne • napisanie maszynopisu • ustosunkowanie się do recenzji • korektę drukarską.</p> <p><i>Mój udział procentowy szacuję na 60%</i></p>	2.717	40	5
RAZEM		11.386	180	25

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

Wstęp

Niesporczaki (Tardigrada) są typem mikroskopijnych zwierząt, który zasiedla rozmaite środowiska – od oceanicznych głębi po szczyty górskie oraz od tropików po regiony polarne. Obecnie na świecie znanych jest ponad 1 200 gatunków tych bezkręgowców (DEGMA *et al.* 2009–2016). Ze względu na drobne rozmiary ciała oraz stosunkowo niewielką liczbę taksonomicznie użytecznych cech morfologicznych i morfometrycznych, taksonomia tej grupy uchodzi powszechnie za problematyczną (RAMAZZOTTI i MAUCCI 1983). Taksonomia niesporczaków sięga początku XIX wieku, kiedy pierwsze gatunki w tym typie zostały formalnie opisane. Jednakże znakomita większość taksonów została odkryta w kolejnych wiekach. Początki taksonomii niesporczaków zbiegają się zatem w czasie ze sformułowaniem biogeograficznej hipotezy „wszystko jest wszędzie” (ang. „Everything is Everywhere”), która mówi o tym, że mikroorganizmy mogą swobodnie przemieszczać się po całej planecie i rozwijać tam, gdzie warunki środowiska są sprzyjające (zob. np. FONTANETO i BRODIE 2011). Wcześni tardigradologowie byli pod wpływem tej hipotezy, co sprawiło że wielu z nich z góry założyło, iż gatunki niesporczaków – będąc mikroskopijnych rozmiarów – muszą być kosmopolityczne. Dlatego też niewielkie różnice w morfologii u powierzchniowo podobnych niesporczaków znalezionych po przeciwstawnych stronach globu były uznawane za zwyczajną zmienność wewnątrzgatunkową. Co więcej, niektóre z różnic, z których istnienia zdajemy sobie sprawę dziś, były najprawdopodobniej nieidentyfikowalne w tamtych czasach, jako że sprzęt optyczny nie był tak dobrej jakości jak teraz, a skaningowa mikroskopia elektronowa – jeszcze dostępna. Ponadto, ponieważ wielu z wczesnych tardigradologów pracowało na terenie Europy, klucze diagnostyczne bazowały głównie na taksonach europejskich, co prowadziło do błędnego oznaczania gatunków zebranych na innych kontynentach jako gatunków europejskich. W konsekwencji wszystko to wzmacniało koncepcję kosmopolityzmu niesporczaków.

Z czasem jednak coraz dokładniejsze analizy zmienności morfologicznej między populacjami zebranymi z rozmaitych części świata zaczęły sugerować, iż różne warianty morfologiczne w rzeczywistości mogą mieć ograniczone zasięgi geograficzne. Wobec tego taksony, które wcześniej uznawane były za kosmopolityczne gatunki, zostały później rozbite na kompleksy gatunków. Pomimo, iż do dziś dzień nierozwiązana pozostaje kwestia tego czy gatunki niesporczaków mogą być kosmopolityczne czy też nie, istnieją przesłanki że – mimo mikroskopijnych rozmiarów – mogą one wykazywać ograniczone zasięgi geograficzne (zob. np. PILATO i BINDA 2001). W konsekwencji, rosnące w ostatnich dekadach powątpiewanie w zasadność hipotezy „wszystko jest wszędzie” oraz dostęp do lepszej jakości sprzętu zachęciły badaczy do wykorzystywania coraz to drobniejszych szczegółów do wyodrębniania i opisywania nowych gatunków. Podejście to budzić może jednak wątpliwości: czy niewielkie różnice są wystarczające do ustanawiania nowych taksonów, czy też może w rzeczywistości są one tylko przejawem zmienności wewnątrzgatunkowej. Kwestia ta jest istotna nie tylko z punktu widzenia

samej taksonomii, ale także i wszystkich innych gałęzi biologii, które polegają na dokładnych szacunkach bioróżnorodności (np. biogeografii, ekologii czy biologii ewolucyjnej).

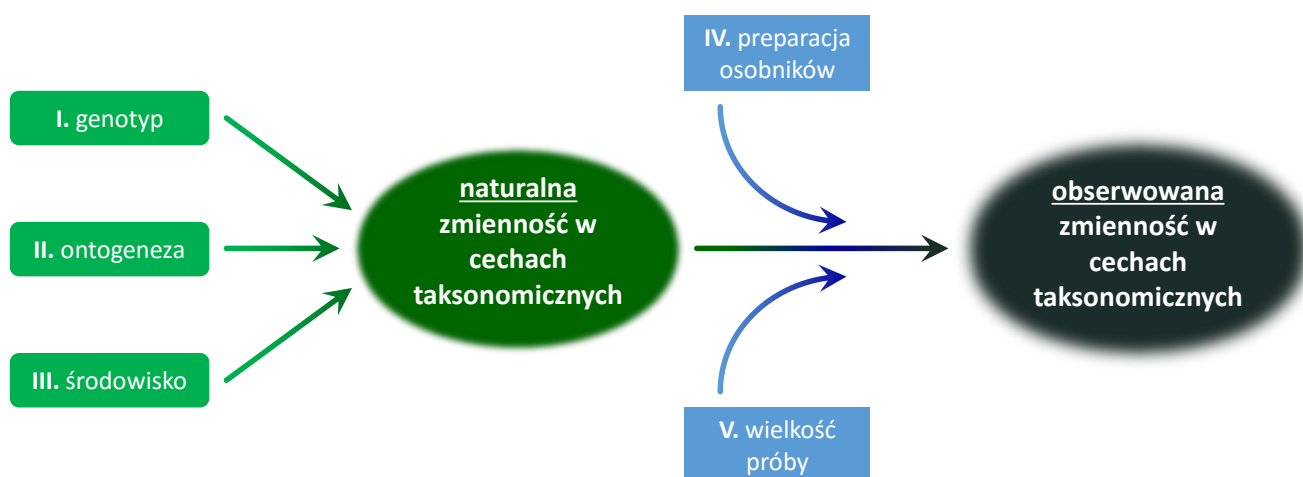
Pomimo iż taksonomia molekularna lub integratywna stała się standardem w wielu grupach organizmów, identyfikacja i delineacja gatunków (α -taksonomia) niesporczaków opiera się nadal w dużej mierze na warsztacie taksonomii klasycznej. Innymi słowy, znaczna większość obecnie znanych gatunków Tardigrada została opisana wyłącznie na podstawie jakościowych (morfologia) i ilościowych (morfometria) cech fenotypowych. Ponadto, ponieważ integratywna identyfikacja gatunków jest możliwa tylko wtedy, gdy dostępna jest bogata biblioteka barkodów DNA powiązanych z danymi fenotypowymi i nazwami gatunkowymi (zob. np. PLEIJEL *et al.* 2008), jest bardzo prawdopodobne iż α -taksonomia niesporczaków będzie długo jeszcze opierała się na cechach klasycznych, jako że większość materiału typowego (referencyjnego) stanowią preparaty stałe, z których izolacja DNA nie jest obecnie możliwa. Ze względu na niewielką liczbę taksonomów specjalizujących się w Tardigrada oraz na znaczną liczbę gatunków wymagających integratywnych redeskrypcji (ponad tysiąc gatunków), klasyczny model taksonomiczny będzie najprawdopodobniej w użyciu jeszcze przez najbliższe dekady.

Jednakże pomimo podstawowego znaczenia cech morfologicznych i morfometrycznych w α -taksonomii niesporczaków, ich wiarygodność we wnioskowaniu taksonomicznym nie została jak do tej pory jednoznacznie zweryfikowana. Co do zasady, przydatność cech taksonomicznych powinna być łatwa do ustalenia, wystarczy bowiem sprawdzić czy wariancja w takich cechach jest mniejsza w obrębie niż pomiędzy gatunkami. PILATO (1975, 1981) podjął próby zidentyfikowania cech fenotypowych mogących służyć identyfikacji gatunków niesporczaków i wiele z nich jest rzeczywiście używanych do dziś. Niemniej jednak, jego analizy były oparte na logice *idem per idem*, jako że oceniał on zmienność w cechach fenotypowych pomiędzy osobnikami zaklasyfikowanymi jako „gatunek” na podstawie tych właśnie cech. Innymi słowy, bez narzędzi pozwalających na niezależną weryfikację badanych osobników, takich jak markery DNA, wyniki nie są do końca konkluzywne. Ponadto, co istotne, prace PILATO (1975, 1981) nie brały pod uwagę wewnątrzgatunkowej zmienności genetycznej, ontogenetycznej czy środowiskowej, które są głównymi czynnikami kształtującymi fenotyp (np. WEST-EBERHARD 2003; zob. też **Rycinę 1**). Nie hodował on niesporczaków ani nie poddawał ich zabiegom eksperymentalnym, więc jego analizy – bazujące na populacjach wyizolowanych bezpośrednio z mchu – mogły prowadzić jedynie do ograniczonych konkluzji.

Poza naturalnymi determinantami zmienności fenotypowej, czynniki ludzkie takie jak preparatyka czy liczba zanalizowanych okazów lub cech (wielkość próby) mogą – z zasady – wpływać na obserwowaną wariancję w cechach taksonomicznych (**Rycina 1**). Jednakże – podobnie do zmiennych naturalnych – wpływ czynników ludzkich na cechy Tardigrada nie został jak dotąd wystarczająco lub w ogóle zbadany. Jedynym studium, które opisuje efekty utrwalania niesporczaków na szkiełkach mikroskopowych, jest praca WAINBERGA i HUMMONA (1981), którzy przetestowali trzy podobne do siebie media. Jednakże, co istotne, autorzy ci ani nie kontrolowali, ani też nie mierzyli nacisku wywieranego przez szkiełko nakrywkowe na okaz.

Ponadto, nie kontrolowali oni wieku ani genotypu testowanych osobników, co musiało skutkować znacznym szumem w danych (wariancją niewynikającą z celowych manipulacji eksperymentalnych). Wreszcie, w przeciwieństwie do reżimów eksperymentalnych, niesporczaki w zabiegu kontrolnym (zanurzone w wodzie) nie były przykryte szkiełkiem nakrywkowym, co jest poważnym błędem metodologicznym. Innymi słowy, jedyne dostępne studium na ten temat jest niekonkluzywne.

Z drugiej strony, kwestia tego czy wielkość próby wpływa na wnioskowanie taksonomiczne nie została jak do tej pory zbadana, pomimo że współczesne standardy w taksonomii niesporczaków mogą być uznane za dyskusyjne. Olbrzymia większość opisów gatunków Tardigrada opiera się na niewielu okazach, jako że przyjęto się uważać, iż kilka lub nawet jeden osobnik czy jajo są wystarczające do scharakteryzowania gatunku. Przegląd niemal dwustu opisów gatunków opublikowanych w ciągu ostatniej dekady dość dobrze obrazuje obecne praktyki w α -taksonomii niesporczaków: niemal dwie trzecie spośród tych opisów opiera się na pomiarach pięciu lub mniejszej liczby osobników, podczas gdy tylko nieco ponad 5% prac analizuje dwadzieścia lub więcej okazów. Co interesujące, wielkość próby w wielu przypadkach nie była niska ponieważ znaleziono niewiele osobników, ale dlatego że sami taksonomie zdecydowali się nie mierzyć dodatkowych okazów. W mojej opinii taki stan rzeczy wynika najprawdopodobniej z historii. Taksonomia, będąc jedną z najstarszych gałęzi biologii, została w znacznym stopniu ukształtowana zanim testowanie hipotez i metodologia statystyczna zostały rozwinięte i mocno zaimplementowane w naukach przyrodniczych. Dlatego też idea osobnika typowego (holotypu), który zawiera wszystkie cechy danego taksonu jest nadal dominująca i wielu taksonomów pracujących z niesporczakami zdaje się nie zauważać, iż taksonomia – podobnie jak jakakolwiek inna gałąź biologii – w zasadzie sprowadza się do badania zmienności, także tej w obrębie gatunku.



Rycina 1. Schemat ilustrujący czynniki naturalne (zielony, I–III) i ludzkie (niebieski, IV–V), których wpływ na obserwowaną zmienność w cechach taksonomicznych niesporczaków był badany przez habilitanta. Cyfry rzymskie odpowiadają publikacjom wymienionym w Tabeli 1 i opisanym poniżej.

Biorąc pod uwagę wymienione wyżej problemy, wykorzystałem kombinację narzędzi eksperymentalnych oraz molekularnych jak i rozmaitych gatunków niesporczaków jako modeli badawczych, celem przetestowania niektórych z fundamentalnych założeń klasycznej taksonomii niesporczaków, takich jak stabilność cech taksonomicznych oraz niezależności ich zmienności od preparatyki jak i wielkości próby użytej do opisów gatunku. Najpierw przyglądałem się trzem kluczowym czynnikom, które z dużym prawdopodobieństwem wpływają na wewnątrzgatunkową zmienność w klasycznych (tj. morfologicznych i morfometrycznych) cechach taksonomicznych niesporczaków (**Rycina 1**): wewnątrzgatunkowej zmienności genetycznej (**publikacja I**), ontogenezie (**publikacja II**) i czynnikiem środowiskowym (**publikacja III**). Ponadto, ze względu na to, że finalnie to badacz wykonuje pomiary i interpretuje dane, sprawdziłem również czy i w jaki sposób czynniki ludzkie, takie jak preparacja okazów (**publikacja IV**) oraz wielkość próby, wpływają na estymację zmienności w tychże cechach. Poniżej krótko podsumowuję każdą z pięciu publikacji, które wchodzi w skład mojego osiągnięcia naukowego złożonego niniejszym w celu uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Publikacja I

Genotyp jest fundamentalną determinantą fenotypu, jednak do tej pory związek pomiędzy wewnątrzgatunkową zmiennością genetyczną i morfologiczną czy morfometryczną u niesporczaków nie został zbadany. Pierwsze studium zaprezentowane w niniejszym cyklu łączy metody badań morfologicznych, molekularnych i eksperymentalnych w próbie rozdzielania czynników genetycznych i środowiskowych, które kształtują morfologię chorionu jaj u lądowego niesporczaka *Ramazzottius subanomalous*. Ornamentowane osłony jajowe są często źródłem kluczowych cech do różnicowania i identyfikacji gatunków gromady Eutardigrada, które generalnie posiadają niewiele taksonomicznie użytecznych cech morfologicznych i morfometrycznych. Budowa zewnętrznych warstw chorionu jaj jest szczególnie przydatna w rodzajach i kompleksach gatunkowych, takich jak *Ramazzottius*, *Paramacrobotus*, *Mesobiotus* czy grupa *Macrobotus hufelandi*, gdzie osobniki różnych gatunków są często do siebie bardzo podobne morfologicznie i morfometrycznie, podczas gdy ich jaja mogą się znacznie różnić wyglądem (zob. np. RAMAZZOTTI i MAUCCI 1983). W ekstremalnych przypadkach, przy braku jaj pewna identyfikacja gatunków jest praktycznie niemożliwa. Jednakże, mimo tego iż chorion jest taksonomicznie ważną strukturą, zakres wewnątrz- i międzygatunkowej zmienności w morfologii jaj nie został zbadany w żadnej grupie niesporczaków. Ze względu na to, że *R. subanomalous* wykazuje znaczącą zmienność w morfologii osłon jajowych, wydaje się być odpowiednim modelem do badań nad determinantami cech taksonomicznych u niesporczaków.

W celu zbadania czy znacząca zmienność w morfologii chorionu ma komponent genetyczny, osobniki oraz jaja pochodzące z jednej próby mchu zostały zmierzone i użyte do zsekwencjonowania fragmentów DNA pierwszej podjednostki oksydazy cytochromu c (COI) oraz transkrybowanego drugiego odstępnika wewnętrznego (ITS-2). COI to fragment

mitochondrialnego DNA kodującego białko, który jest szeroko stosowany jako standardowy barkod wykazujący umiarkowane tempo mutacji, co czyni go odpowiednim do między-, a czasami także do wewnątrzgatunkowych porównań w wielu grupach Metazoa. ITS-2 jest niekodującym fragmentem jądrowego DNA, który coraz częściej uważany jest za odpowiedni do porównań w obrębie jak i między blisko spokrewnionymi gatunkami (zob. np. *publikacja II* poniżej). Ponieważ hodowla *R. subanomalous* okazała się być nie w pełni skuteczna, dwa alternatywne protokoły eksperymentalne zostały użyte, aby otrzymać dane morfometryczne i molekularne z określonych osobników i jaj. Mianowicie, samice z widocznymi oocytami zostały wyizolowane do pojedynczych naczyń hodowlanych i były inkubowane do czasu zniesienia jaj. Następnie część samic została wykorzystana do zsekwencjonowania wspomnianych wyżej markerów molekularnych, a ich jaja zostały utrwalone w płynie Hoyer'a na szkiełkach mikroskopowych. W drugiej grupie samic jaja były inkubowane do momentu wyklucia się osobników juwenilnych, które zostały przeznaczone do sekwencjonowania DNA, podczas gdy samice wraz z pustymi chorionami zostały utrwalone na preparatach. Dzięki takiej konstrukcji eksperymentalnej zarówno samice, jak i jaja, mogły być zmierzone (puste osłony jajowe rzadko kiedy nadają się do pomiarów morfometrycznych) i komplementarnie zsekwencjonowane. Zmierzono wszystkie cechy morfometryczne osobników i jaj standardowo wykorzystywane w taksonomii tego rodzaju niesporczaków.

Otrzymane sekwencje DNA wykazały jeden haplotyp COI, ale dwa haplotypy ITS-2. Porównanie morfometryczne pomiędzy dwoma haplotypami ITS-2 pokazało, iż zwierzęta były bardzo do siebie podobne, podczas gdy jaja różniły się istotnie pod względem wszystkich zmierzonych cech. Dzięki wykorzystaniu technik taksonomii integratywnej, studium pokazało że pojedynczy gatunek może składać jaja charakteryzujące się zmiennością tak dużą, iż mogłyby one zostać zaklasyfikowane jako należące do różnych gatunków w modelu taksonomii klasycznej, gdyby poszczególne morfotypy zostały znalezione oddzielnie. Innymi słowy, przykład ten pokazuje że zmienność wewnątrzgatunkowa w cechach klasycznych może być zwodnicza, jeżeli nie jest ona zweryfikowana poprzez narzędzia molekularne w modelu taksonomii integratywnej. Co więcej, studium – jako pierwsze – zademonstrowało przekonujący dowód na kongruencję pomiędzy cechami genetycznymi i fenotypowymi w obrębie gatunku niesporczaka poprzez zastosowanie konstrukcji eksperymentalnej „wspólnego ogrodu” (ang. „common garden design”), gdzie osobniki o różnych genotypach były trzymane w identycznych warunkach środowiskowych (co jest przeciwieństwem konstrukcji opisanej w *publikacji III*, gdzie niesporczaki o takim samym pochodzeniu genetycznym były poddane różnym warunkom środowiska w celu przetestowania plastyczności fenotypowej w cechach taksonomicznych). Zanedbywalne różnice w morfologii samic przy równoczesnych wyraźnych różnicach w cechach jaj mogą pomóc w zilustrowaniu wczesnych etapów ewolucji prowadzącej do powstawania kompleksów gatunkowych, w których gatunki różnią się głównie morfologią chorionu. Niniejsze studium może być również traktowane jako przestroga przed opisywaniem gatunków na podstawie małej wielkości próby (zob. także *publikację II* oraz *V* opisane poniżej).

Publikacja II

Druga praca w cyklu, poprzez wykorzystanie metod zarówno eksperymentalnych jak i molekularnych, pokazała że konfiguracja pazurów w rodzaju *Milnesium* – cecha ważna taksonomicznie, uważana za stałą i wielokrotnie wykorzystana (również przeze mnie) do opisanie wielu gatunków – w rzeczywistości charakteryzuje się zmiennością rozwojową. Artykuł proponuje trzy alternatywne metody detekcji zmienności ontogenetycznej u niesporczaków, które różnią się stopniem trudności technicznej, ale równocześnie także i dokładnością określania stadium rozwojowego, w którym następuje zmiana fenotypowa: wykluwanie, genotypowanie oraz śledzenie rozwoju. Wykluwanie jest najtańszą i najprostszą z trzech metod – wymaga jedynie wyizolowania co najmniej jednej wylinki z żywymi jajami i inkubowania jej do momentu wyklucia się osobników juwenilnych. Porównanie konfiguracji pazurów matki (wynioskowane z wylinki) z konfiguracją u młodych jest wystarczające, aby wykryć zmienność ontogenetyczną w obrębie gatunku. Genotypowanie wymaga izolacji zarówno małych jak i dużych osobników, które należy najpierw zanalizować *in vivo* pod mikroskopem świetlnym i zanotować konfiguracje pazurów, a następnie zsekwencjonować wybrany barkod (np. COI lub ITS-2), aby stwierdzić czy osobniki z różnymi konfiguracjami należą do jednego bądź dwóch gatunków (nierzadko w jednej próbie mchu znajduje się więcej niż jeden gatunek niesporczaków). Śledzenie rozwoju wymaga najwięcej czasu i umiejętności w porównaniu do poprzednich protokołów. W zasadzie sprowadza się ono do założenia hodowli *in vitro*, która pozwala na izolowanie i utrwalanie na preparatach poszczególnych stadiów rozwojowych, od osobników juwenilnych do dojrzałych płciowo. W przeciwieństwie do dwóch pierwszych metod, śledzenie rozwoju nie tylko daje możliwość testowania na obecność zmienności ontogenetycznej, ale pozwala także na identyfikację stadium życiowego, w którym następuje przejście z jednej do drugiej konfiguracji pazurów. Ponieważ wykluwanie i genotypowanie pozwalają jedynie na uzyskanie ograniczonej informacji o momencie zmiany konfiguracji, a także ze względu na to że genotypowanie jest kosztowne i często wyklucza preparaty stałe, artykuł sugeruje śledzenie rozwoju jako optymalny protokół do detekcji zmienności ontogenetycznej. Niemniej jednak, wszystkie protokoły mogą być wykorzystane do wykrywania zmienności rozwojowej u wielu innych grup niesporczaków.

Odkrycie zmienności ontogenetycznej w konfiguracji pazurów u *Milnesium variefidum*, nowym gatunku niesporczaka opisanym w pracy, może mieć poważne konsekwencje dla taksonomii rodzaju, a być może także dla całego rzędu Apochela. Mianowicie, jeżeli dany gatunek przejawia zmienność rozwojową i zdarzy się, że osobniki młodociane i dojrzałe odnotowane są oddzielnie, to mogą one zostać błędnie sklasyfikowane jako dwa różne gatunki. Dlatego też, aby uniknąć inflacji taksonomicznej, zmienność ontogenetyczna powinna być sprawdzana przy każdym opisie nowego gatunku *Milnesium*. Nawet prosta analiza zakresów długości ciała znanych gatunków *Milnesium* pokazuje wyraźne braki w opisach taksonomicznych – wiele taksonów zostało opisanych na podstawie zaledwie kilku osobników, a niemal w dwóch trzecich serii typowych zakresy długości ciała są zbyt wąskie, aby wykluczyć możliwość występowania zmienności ontogenetycznej w konfiguracji pazurów.

Poza dowodami na zmienność rozwojową, artykuł zawiera także integratywny opis nowego gatunku (*M. variefidum*) oraz integratywną redeskrpcję spokrewnionego taksonu (*M. berladnicorum*), demonstrując tym samym, że wyraźnie odrębne genetycznie gatunki niesporczaków mogą przejawiać bardzo podobne fenotypy (gatunki te różnią się we wszystkich czterech zsekwencjonowanych markerach DNA, trzech jądrowych i jednym mitochondrialnym, które charakteryzują się różnym tempem mutacji: odpowiednio 18S rRNA, 28S rRNA, ITS-2 oraz COI). Ze względu na to, że *M. variefidum* i *M. berladnicorum* przejawiają niewielkie różnice morfologiczne, technicznie nie są one gatunkami kryptycznymi. Niemniej jednak mogą one zostać ze sobą bardzo łatwo pomyłone pomimo, iż są filogenetycznie odległe. Ponadto, publikacja poddaje gruntownej dyskusji obecny stan wiedzy o taksonomii rodzaju *Milnesium*, opisuje wszystkie cechy używane w delineacji gatunków, a także proponuje klucz diagnostyczny, który bierze pod uwagę nowo odkrytą zmienność ontogenetyczną w konfiguracji pazurów.

Publikacja III

Dwa pierwsze artykuły w cyklu opisują przykłady zmienności fenotypowej względem genotypu i rozwoju osobniczego i opierają się one na modelach, które przejawiają te konkretne typy zmienności. Jednakże trzecie studium jest szeroko zakrojonym eksperymentem, który zaprojektowałem, aby systematycznie przetestować stabilność środowiskową cech taksonomicznych niesporczaków. Wraz z genotypem, środowisko jest jednym z fundamentalnych determinant fenotypu i wielokrotnie zostało stwierdzone, iż może ono istotnie wpływać na szeroki wachlarz cech morfologicznych i morfometrycznych u rozmaitych organizmów (zob. np. WEST-EBERHARD 2003). Mimo to, do czasu publikacji niniejszego artykułu nic nie było wiadome na temat plastyczności fenotypowej w cechach taksonomicznych niesporczaków. Jako że, co opisałem powyżej, taksonomia Tardigrada opiera się głównie na metodologii klasycznej, raczej zdumiewający jest fakt, iż nie podjęto dotychczas próby oszacowania wpływu czynników środowiskowych na zmienność w taksonomicznych cechach niesporczaków (jednakże jednym z powodów mogły być notoryczne trudności w hodowli niesporczaków).

Przeprowadzono więc serię eksperymentów, żeby przetestować czy możliwe jest, aby niesporczaki o takim samym genotypie, ale pochodzące z różnych warunków środowiskowych rozwinęły fenotypy na tyle różne, że byłyby zaklasyfikowane jako osobne gatunki przy użyciu metod klasycznej taksonomii. Aby móc wyciągnąć jak najogólniejsze wnioski, łącznie sześć gatunków niesporczaków reprezentujących cztery rodziny (Milnesiidae, Hypsibiidae, Isohypsibiidae, i Macrobiotidae) było hodowanych od jaja do dojrzałości w pięciu reżimach eksperymentalnych odzwierciedlających kluczowe czynniki środowiskowe, które z dużym prawdopodobieństwem cechują się zmiennością w środowisku naturalnym – temperaturę i dostępność pożywienia. Jako że każdy z sześciu gatunków modelowych był reprezentowany przez izogeniczny szczep klonalny, wpływ czynników pozaśrodkowych był zminimalizowany i różnice pomiędzy reżimami eksperymentalnymi mogły zostać zinterpretowane jako

plastyczność fenotypowa. W pierwszych trzech zabiegach stała temperatura była na poziomie niskim, średnim lub wysokim (poszczególne wartości były częściowo różne u różnych gatunków, ale w większości przypadków było to odpowiednio 8, 16 i 24 °C). Czwarty reżim imitował niestabilną temperaturę, która fluktuowała pomiędzy niskimi, średnimi i wysokimi wartościami. Wreszcie w zabiegu piątym pokarm był ograniczany poprzez naprzemiennie stosowane dwudniowe okresy nieograniczonego dostępu do pokarmu i dwudniowe okresy głodówki. Z wyjątkiem ostatniego zabiegu, we wszystkich pozostałych reżimach pokarm był podawany *ad libitum*. Temperatura w eksperymencie z ograniczonym pokarmem była stała na poziomie 16 °C. Początek eksperymentu dla każdego gatunku polegał na izolacji 540 równowiekowych jaj, a następnie losowym rozdeleniu ich do pięciu zabiegów środowiskowych (108 jaj na zabieg i gatunek; łącznie 3 240 jaj). Przy każdym kolejnym linieniu do dwunastu osobników (wraz z wylinkami i jajami, jeżeli zostały złożone) było utrwalanych w płynie Hoyerera na szkiełkach mikroskopowych celem wykorzystania ich do późniejszych pomiarów morfometrycznych. Czynności te były powtarzane do stadium dziewiątego w przypadku rodzajów *Diphascion*, *Hypsibius*, *Isohypsibius*, *Paramacrobotus* i *Thulinus*, oraz do stadium piątego u *Milnesium* (dane pilotażowe pokazały, iż u gatunków z rzędu Parachela wzrost ciała maleje do zaniedbywalnych przyrostów w okolicach stadium siódmego, a w przypadku rzędu Apochela – stadium czwartego). Następnie został zmierzony szereg kluczowych cech taksonomicznych, a ich wymiary zostały porównane pomiędzy zabiegami eksperymentalnymi. Poszczególne cechy wybrane do pomiarów mogły być różne u różnych gatunków, ale z zasady były to elementy kluczowych struktur taksonomicznych, takich jak aparat bukalny (gardzielowy) czy pazury. Dodatkowo wartości względne (*pt*; PILATO 1981) zostały obliczone, jako że są one szeroko stosowane w taksonomii niesporczaków. W ciągu dwóch lat trwania projektu uzyskano ponad 28 000 pomiarów morfometrycznych dla ponad 2 300 osobników. Ponieważ zestaw danych był obszerny, moc statystyczna była również znacząca, co skutkowało wykrywaniem istotności statystycznej nawet przy niewielkich różnicach pomiędzy średnimi. Dlatego też obliczono także maksymalną wielkość efektu, aby do otrzymanych wyników przypisać istotność taksonomiczną. Maksymalna wielkość efektu (*z*) została zdefiniowana jako różnica pomiędzy najbardziej odległymi średnimi (obliczonymi dla wszystkich stadiów życiowych w obrębie gatunku) pomiędzy zabiegami (δ) wyrażoną jako frakcję zakresu globalnego dla danej cechy (Δ), czyli $z = (\delta/\Delta) \times 100\%$. Dane dla każdej cechy i gatunku zostały zanalizowane przy użyciu ogólnych modeli addytywnych (zabieg był niezależną zmienną kategoriową a stadium życiowe jako kowariata). Modele addytywne zostały wybrane, jako że wzorzec wzrostu niesporczaków ma wyraźnie asymptotyczny charakter.

Studium wykazało, że w przypadku pięciu gatunków z rzędu Parachela olbrzymia większość cech absolutnych i względnych różniła się pomiędzy zabiegami, podczas gdy nie wykryto istotnych statystycznie różnic u przedstawiciela z rzędu Apochela. Zgodnie z przewidywaniami, niesporczaki generalnie osiągnęły największe rozmiary ciała w zabiegu z niską temperaturą, a najmniejsze w reżimach z wysoką temperaturą i ograniczonym pokarmem. Co jednakże kluczowe, przeważająca istotność statystyczna wynikała głównie ze znaczącej mocy

statystycznej, a nie z wielkości efektów, które wahały się zazwyczaj pomiędzy małymi i średnimi wartościami. Innymi słowy, zaobserwowane różnice – pomimo iż konsystentne – były niewielkie pod względem istotności taksonomicznej i najprawdopodobniej nie byłyby uznane przez klasycznych taksonomów za wystarczające do zaklasyfikowania zwierząt z różnych zabiegów eksperymentalnych jako różne taksony. Innymi słowy, eksperymenty pokazały, że taksonomiczne cechy niesporczaków nie wykazują znaczącej plastyczności fenotypowej i w związku z tym mogą być używane do identyfikacji osobników o takim samym podłożu genetycznym, pochodzących z różnych siedlisk.

W mojej intencji niniejsza praca, będąca gruntownym testem eksperymentalnym jednego z podstawowych założeń klasycznej taksonomii niesporczaków, jest główną częścią mojego osiągnięcia naukowego przedstawionego do wniosku o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Publikacja IV

Teoretycznie preparowanie może wpływać na wymiary istotnych taksonomicznie cech, jednak do tej pory nie zostało to konkluzywnie przetestowane. Dlatego też zaprojektowałem eksperyment, który rygorystycznie i wszechstronnie porównał różne metody preparowania niesporczaków w celu przetestowania czy preparowanie – poprzez zniekształcanie cech morfometrycznych – może istotnie wpłynąć na wnioskowanie taksonomiczne. Drugim celem badań była próba sformułowania praktycznych rekomendacji odnośnie preparatyki niesporczaków do mikroskopii świetlnej. Jako model wybrałem gatunek *Milnesium*, ponieważ osobniki dorosłe w tym rodzaju charakteryzują się najszerszymi tubami bukalnymi spośród wszystkich niesporczaków. Szersze tuby są wrażliwszymi miernikami potencjalnej deformacji spowodowanej naciskiem szkiełka nakrywkowego (aby jednakże być w stanie sformułować bardziej ogólne konkluzje, osobniki juwenilne ze znacznie węższymi tubami, odzwierciedlającymi te w wielu innych rodzajach niesporczaków, były użyte równolegle z osobnikami dorosłymi). Z drugiej strony, długość tuby bukalnej może być wykorzystana jako wskaźnik relaksacji okazu – u całkowicie rozciągniętych osobników pomiar długości tuby bukalnej jest największy. Dzieje się tak ponieważ prawdziwy wymiar cechy może być zmierzony tylko wtedy, gdy jest ona zorientowana prostopadle do obserwatora (u obkurczonych osobników struktury są zazwyczaj zorientowane w rozmaitych płaszczyznach, co skutkuje niedoszacowanymi pomiarami). Aby zredukować szum w danych, wpływ genotypu, środowiska i wieku zwierząt eksperymentalnych zostały zredukowane poprzez użycie konkretnych stadiów (pierwszego i czwartego) izogenicznego szczepu klonalnego hodowanego w jednolitych warunkach laboratoryjnych (16 °C i pokarm podany *ad libitum*). Łącznie dziewięć metod preparacyjnych zostało przetestowanych zarówno pod kątem całościowej jakości okazu (odsetka cech zorientowanych tak, że mogą być poprawnie zmierzone), jak i relaksacji oraz zniekształcenia istotnych taksonomicznie cech. Trzy pierwsze metody różniły się objętością płynu Hoyera, w którym zatopiony był okaz: minimalną, standardową i nadmiarową (czym mniejsza objętość, tym większy nacisk wywoływany przez szkiełko nakrywkowe na osobnika). W

drugim zestawie metod użyto obciążników o wzrastającej wadze w celu uzyskania coraz większego nacisku na okaz, który został zatopiony w standardowej objętości płynu Hoyera: 10, 20 i 30 gramów. Wreszcie, w trzeciej grupie zabiegów, relaksacja okazów została osiągnięta poprzez wysoką temperaturę, chwilowy nacisk na szkiełko nakrywkowe albo poprzez obydwie metody (ciepło zabija osobniki i denaturuje białka, co zapobiega obkurczaniu się niesporczaków po umieszczeniu ich w płynie Hoyera, a krótkotrwałe i delikatne naciśnięcie szkiełka nakrywkowego pomaga permanentnie rozplaszczyc osobnika, powodując jedynie chwilową deformację).

Studium jednoznacznie pokazało, iż metodyka preparowania niesporczaków na szkiełkach mikroskopowych znacząco wpływa na rozmiary taksonomicznie ważnych cech. Czym większy nacisk wywierany przez szkiełko nakrywkowe, tym lepsza relaksacja okazu i co za tym idzie – jego wypoziomowanie, które pozwala na poprawny pomiar długości ciała, tuby bukalnej oraz innych cech taksonomicznych. Z drugiej strony, czym mocniejsze przyciśnięcie osobnika, tym większa deformacja tuby bukalnej odzwierciedlona w jej anormalnie powiększonej średnicy. Pomimo, iż ten konflikt jest trudny do pogodzenia, spośród dziewięciu przetestowanych protokołów, okazy o najwyższej jakości – z w pełni wyciągniętymi ciałami i prawidłowo wypoziomowanymi tubami bukalnymi bez istotnych deformacji – otrzymano dzięki zastosowaniu krótkiego nacisku na szkiełko poprzedzonego relaksacją termalną. Innymi słowy niniejsze badania wykazały, że metoda preparowania niesporczaków jest ważnym czynnikiem wpływającym na jakość pomiarów morfometrycznych. Ponadto protokół, dzięki któremu możliwe jest uzyskanie w najmniejszym stopniu zdeformowanych, ale równocześnie odpowiednio ułożonych okazów, został zaproponowany jako standardowa technika preparowania niesporczaków na potrzeby mikroskopii świetlnej.

Publikacja V

Ponieważ wielkość próby zazwyczaj silnie wpływa na wnioskowanie statystyczne, a równocześnie w taksonomii Tardigrada notorycznie opisywane są serie typowe składające się z niewielkich liczb osobników, moim celem było empirycznie przetestować jak wielkość próby wpływa na wnioskowanie taksonomiczne oraz sformułować wskazówki kreujące dobre praktyki taksonomiczne. Ostatnia praca w niniejszym cyklu wykorzystwała obszerny zestaw danych zebranych do celów studium nad plastycznością fenotypową, opisanym powyżej (*publikacja III*). Dostępność ponad 28 000 pomiarów morfometrycznych dla osobników w różnym wieku i pochodzących z różnych warunków środowiskowych, umożliwiła wykorzystanie tych danych do wiarygodnego oszacowania globalnych średnich i zakresów wartości dla cech w zbadanych gatunkach.

Wobec powyższego, przeprowadzenie zrandomizowanych próbkowań o zwiększającej się wielkości próby mogłoby dostarczyć cennych wskazówek odnośnie tego ile osobników/cech należy zmierzyć, aby wiarygodnie oszacować średnie i zakresy zmienności w cechach używanych do klasycznego wyodrębniania gatunków niesporczaków. Cel ten został osiągnięty poprzez wykorzystanie algorytmu napisanego, na podstawie mojej koncepcji, przez moją

koleżankę dr ZOFIĘ PROKOP (co istotne, algorytm może być wykorzystany do przeprowadzenia analogicznych symulacji dla dowolnej liczby cech, wielkości próby oraz grupy organizmów). Aby znaleźć optymalną wielkość próby, granice błędu taksonomicznego, tj. progu wewnątrz (lub powyżej) którego otrzymane z symulacji średnie (lub zakresy) mogły być uznane za wiarygodne oszacowania parametrów globalnych, zostały zdefiniowane jako $\pm 10\%$ zakresu globalnego wokół średniej globalnej (dla szacowań średnich) oraz jako 80% zakresu globalnego (dla szacowań zakresów).

Symulacje pokazały, że optymalna wielkość próby konieczna do wiarygodnego szacowania średnich wahała się między 6 a 40, z ogólną średnią na poziomie 19 pomiarów. W przypadku zakresów wymagana wielkość próby była znacznie wyższa (26–413; średnio 130). Jednak w związku z tym, że zakres może być często dobrze oszacowany poprzez zmierzenie najmniejszego i największego osobnika, dla wiarygodnego oszacowania średniej powinno być wykonanych co najmniej 20 pomiarów, lecz bezpieczniej jest zmierzyć około 30 osobników/cech. Niniejsze studium jasno pokazało, iż pomiar zaledwie kilku osobników (co jest powszechną praktyką w taksonomii niesporczaków) może skutkować znacznym niedoszacowaniem zakresów zmienności oraz niedokładnymi szacunkami średnich. Wyrażona została nadzieja, że praca ta pozytywnie wpłynie na standardy przyszłych opisów taksonomicznych niesporczaków.

Uwagi końcowe

Zaprezentowane powyżej artykuły oferują nowy wgląd w taksonomię i biologię Tardigrada. **Publikacja I** opisuje, po raz pierwszy, korelację pomiędzy zmiennością genetyczną i fenotypową w obrębie gatunku niesporczaka, **publikacja II** podaje dowód na zmienność ontogenetyczną w taksonomicznie ważnej cesze kosmopolitycznego rodzaju *Milnesium*, **publikacja III** jest pierwszym studium plastyczności fenotypowej niesporczaków i potwierdza ono środowiskową stabilność cech taksonomicznych u tych bezkręgowców, **publikacja IV** oferuje pierwszy konkluzyjny dowód na to, że sposób preparowania może wpływać na ważne cechy morfometryczne, a **publikacja V** skwantyfikowała, po raz pierwszy dla Tardigrada, efekt wielkości próby na wnioskowanie taksonomiczne. Każdy z pięciu artykułów zawiera także nowatorskie protokoły eksperymentalne, które pozwoliły na przetestowanie pięciu wyżej wymienionych determinant cech taksonomicznych niesporczaków (**Rycina 1**). Co istotne, stworzone metody mogą być również wykorzystane do testowania metod taksonomicznych w innych problematycznych grupach mikroskopijnych Metazoa.

Wszystkie pięć publikacji jest wynikiem indywidualnego grantu badawczego, który w 2012 otrzymałem od *Fundacji na rzecz Nauki Polskiej*. Eksperymenty, w szczególności te leżące u podstaw publikacji III i IV, były bardzo żmudne i wymagały znacznych nakładów siły roboczej. Większość prac laboratoryjnych została wykonana pod moją opieką przez magistrantów i licencjatów, których wybrałem do mojego zespołu po objęciu posady na Uniwersytecie Jagiellońskim w 2012 roku. Chciałbym podkreślić, iż bez oddania i ciężkiej pracy moich

studentów nie byłbym w stanie napisać cyklu prac, które składają się na moje osiągnięcie naukowe przedłożone tu jako wniosek o habilitację.

Literatura

- DEGMA, P., BERTOLANI, R. i GUIDETTI, R. (2009–2016). Actual checklist of Tardigrada species. 47 pp.: www.tardigrada.modena.unimo.it/miscellanea/Actual%20checklist%20of%20Tardigrada.pdf (odczytane 31 grudnia 2016).
- FONTANETO, D. i BRODIE, J. (2011) Why biogeography of microorganisms? In: Ed. by FONTANETO, D. "Biogeography of Microscopic Organisms. Is everything small everywhere?": 3–10.
- PILATO, G. (1975) On the taxonomic criteria of the Eutardigrada. *Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia*, 32(S): 277–303.
- PILATO, G. (1981) Analisi di nuovi caratteri nello studio degli Eutardigradi. *Animalia*, 8: 51–57.
- PILATO, G. i BINDA, M.G. (2001) Biogeography and limno-terrestrial tardigrades: are they truly incompatible binomials? *Zoologischer Anzeiger*, 240: 511–516.
- PLEIJEL, R., JONDELIUS, U., NORLINDER, E., NYGEREN, A., OXELMAN, B., SCHANDER, C., SUNDBERG, P. i THOLLESSON, M. (2008) Phylogenies without roots? A plea for the use of vouchers in molecular phylogenetic studies. *Molecular Phylogenetics & Evolution*, 48: 369–371.
- RAMAZZOTTI, G. i MAUCCI, W. (1983) Il Phylum Tardigrada. III edizione riveduta e aggiornata. *Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia*, 41: 1–1011.
- WAINBERG, R.H. i HUMMON, W.D. (1981) Morphological variability of the tardigrade *Isohypsibius saltursus*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 100: 21–33.
- WEST-EBERHARD, M.J. (2003) *Developmental Plasticity and Evolution*. New York, NY: Oxford University Press.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

[liczby w nawiasach kwadratowych odnoszą się do moich publikacji wymienionych w Tabeli 3 w Załączniku 5, publikacje 1–6 zostały opublikowane przed otrzymaniem tytułu zawodowego magistra, 7–33 w trakcie studiów doktoranckich, a 34–74 po uzyskaniu stopnia naukowego doktora]

Ze względu na równoległe zainteresowanie taksonomią niesporczaków jak i ekologią ewolucyjną, moja kariera naukowa jest czasami uważana za eklektyczną i nietypową. Tytuł zawodowy magistra, jak i stopień naukowy doktora, uzyskałem badając zagadnienia w obrębie ekologii ewolucyjnej, natomiast o stopień naukowy doktora habilitowanego postanowiłem ubiegać się na podstawie badań z zakresu taksonomii niesporczaków, aby podkreślić mój wkład w tę do pewnego stopnia zaniedbaną gałąź biologii. Ponadto, podczas gdy moje prace z zakresu ekologii ewolucyjnej zostały wykonane pod opieką lub we współpracy z dojrzałymi naukowcami, większość moich prac na niesporczakach została napisana we współpracy z moim kolegą, drem ŁUKASZEM KACZMARKIEM, wobec czego moim zdaniem jest to lepszy materiał do oceny mojej naukowej samodzielności. Badania nad niesporczakami zacząłem w czasie drugiego roku (jednolitych) studiów magisterskich i kontynuowałem je bez przerwy równoległe

z pracą nad moimi stopniami akademickimi. Temat niesporczaków stał się głównym nurtem mojej kariery po objęciu posady na Uniwersytecie Jagiellońskim i po otrzymaniu grantu powrotowego od *Fundacji na rzecz Nauki Polskiej*, który pozwolił mi na w pełni niezależne i samodzielne badania (opisane szczegółowo w sekcji 4 powyżej). Dlatego też uważam, iż podłużny/tematyczny (taksonomia niesporczaków *versus* ekologia ewolucyjna) raczej niż poprzeczny/chronologiczny (przed *versus* po otrzymaniu stopnia naukowego doktora) podział moich prac lepiej opisuje moją karierę, toteż poniżej najpierw przedstawiam moje odkrycia w zakresie Tardigrada, a następnie w obrębie ekologii ewolucyjnej. Niemniej jednak, aby spełnić wymogi formalne niniejszego wniosku o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego, moje publikacje są wyraźnie przypisane do trzech okresów mojej dotychczasowej kariery naukowej: artykuły [1–6] zostały opublikowane przed uzyskaniem tytułu zawodowego magistra, [7–33] w trakcie studiów doktoranckich, a [34–74] po otrzymaniu stopnia naukowego doktora (wytluszczone numery w nawiasach kwadratowych odpowiadają publikacjom wymienionym w **Tabeli 3** w **Załączniku 5**). Prace, w których jestem autorem wiodącym lub jednym z autorów wiodących (tj. pierwszym lub ostatnim lub/i korespondencyjnym) oznaczone są poprzez podkreślenie numerów publikacji.

Moje badania nad Tardigrada koncentrowały się głównie na taksonomii, jednakże opublikowałem również kilka prac faunistycznych, zoogeograficznych i ekologicznych dotyczących niesporczaków. Łącznie opisałem do tej pory jeden nowy rodzaj [18] oraz pięćdziesiąt osiem nowych gatunków ze wszystkich kontynentów z wyjątkiem Australii (trzydzieści przed uzyskaniem tytułu magistra, dwadzieścia pięć w trakcie studiów doktoranckich oraz dwadzieścia jeden po otrzymaniu stopnia doktora), co stanowi około 5% wszystkich znanych gatunków niesporczaków. Opublikowałem także siedem redeskrpcji i napisałem klucze diagnostyczne lub/i zrewidowałem kilka kompleksów gatunkowych i rodzajów (chronologicznie): grupa *Echiniscus bigranulatus* [12], rodzaj *Calcarobiotus* [17], rodzaj *Doryphoribius* [35], grupa *Mesobiotus harmsworthi* (wtedy *Macrobiotus*) [39], rodzaj *Milnesium* [46], rodzaj *Dactylobiotus* [49] oraz rodzaj *Mesocrista* [71].

Aby usprawnić i ułatwić opisywanie gatunków oraz ich porównywanie, zaproponowałem standaryzację i uproszczenie opisów niektórych złożonych cech taksonomicznych, takich jak (chronologicznie): konfiguracja guzków kutykularnych w klasie Eutardigrada [35], konfiguracja pazurów w rzędzie Apochela [46], konfiguracja płytek brzusznych w klasie Heterotardigrada [47] oraz sekwencja długości plakoidów w rzędzie Parachela [60]. Zaproponowałem również nowe metody pomiarów niektórych cech taksonomicznych, np. (chronologicznie): pazurów w rodzinach rzędu Parachela (z wyjątkiem rodziny Macrobiotidae) [29] czy przedniej i tylnej średnicy tuby bukalnej oraz proporcji tych średnic w rzędzie Apochela [46]. Ponadto, w 2012 roku stworzyłem i do tej pory prowadzę *Tardigrada Register* – internetowe repozytorium przeznaczone dla danych z zakresu taksonomii niesporczaków [52]. *TR* to ogólnodostępna platforma, która pozwala na przechowywanie surowych danych, takich jak arkusze z pomiarami

morfometrycznymi czy oryginalnymi fotomikrografiami, które mają w zamierzeniu ułatwić identyfikację i opisywanie gatunków. Serwis ten zawiera także gotowe arkusze morfometryczne, które stworzyłem aby promować standaryzację typu i formatu danych morfometrycznych jakie podawane są w taksonomicznych publikacjach dotyczących niesporczaków.

Efektom moich badań faunistycznych są publikacje opisujące stwierdzenia nowych gatunków niesporczaków lub/i listy gatunków dla dwunastu krajów/regionów świata (chronologicznie): Republika Południowej Afryki [3], Syberia [10], Mongolia [14], Bułgaria [39], Meksyk [44], Turcja [50], Svalbard [55], Antarktyda [59], Peru [60] oraz Litwa, Łotwa i Estonia [61]. Stwierdziłem również osiem nowych gatunków dla polskiej fauny (publikacje opisujące stwierdzenia są wymienione w Tabeli 4 w Załączniku 5), co stanowi niemal jedną dziesiątą gatunków niesporczaków znanych z Polski. Niedawno wzięłem udział w szeroko zakrojonym przeglądzie literatury na temat zoogeografii lądowych i słodkowodnych Tardigrada. Do tej pory drukiem ukazały się trzy monografie (chronologicznie): o niesporczakach Ameryki Środkowej [56], Południowej i [64] Północnej [74]. Łącznie zaplanowanych jest jeszcze siedem kolejnych części cyklu, który ma obejmować stwierdzenia niesporczaków na całej planecie (część o Afryce została niedawno przyjęta do druku, a części o Australazji i Azji są bliskie ukończenia i zostaną złożone w czasopiśmie *Zootaxa* w roku 2017). Dane zaprezentowane w pierwszych trzech monografiach zostały wykorzystane do przetestowania hipotezy „wielkiego przeplatania się biot amerykańskich” (ang. „Great American Biotic Interchange”, GABI) [72]. Studium to do pewnego stopnia wsparło hipotezę GABI, ale wskazało równocześnie, iż mechanizmy kształtujące różnorodność i rozmieszczenie gatunków środkowoamerykańskich niesporczaków są bardziej złożonym zagadnieniem, niż przewiduje to mieszanie się faun Ameryki Północnej i Południowej (które na przykład nie wyjaśnia endemizmu niektórych ze środkowoamerykańskich taksonów). Należy jednak zaznaczyć, iż jednym z głównych problemów, z którym się spotkaliśmy w trakcie analizowania literatury zoogeograficznej jest niska jakość danych. Kontynenty są słabo opróbkowane, większość stwierdzeń jest niedokładana lub najprawdopodobniej błędna oraz praktycznie brak jest danych molekularnych dla niesporczaków pochodzących z tych regionów. Innymi słowy, konkluzje dotyczące testu hipotezy GABI powinny być traktowane z pewną dozą ostrożności, jako że niezależnie od tego jak wyrafinowane są analizy, ostateczny wynik zawsze zależy także od jakości danych wejściowych. Podkreśla to tylko potrzebę zmiany używanych obecnie klasycznych technik taksonomicznych na techniki taksonomii integratywnej oraz potrzebę dogłębnej rewizji starszych opisów i stwierdzeń gatunków niesporczaków.

Na swoim koncie mam także publikacje na temat biologii i ekologii niesporczaków. Praca o *Pyxidium tardigradum* [30] – gatunku orzęska (Ciliophora) żyjącym na lądowych niesporczakach – przedstawia pierwsze obrazy z mikroskopu skaningowego oraz przyżyciowe obserwacje tego pierwotniaka. Ze względu na to, że niektóre z przebadanych niesporczaków miały przyklejonych na sobie do 35 epizoonów, postawiliśmy hipotezę iż *P. tardigradum* powinien

być prawdopodobnie uważany raczej za pasożyta niż symforionta niesporczaków (jak do tej pory zwykło się uważać). Badanie przesiewowe zawartości jelita środkowego około 4 000 osobników z rodzaju *Milnesium* [73] pokazało, że dieta w tym rodzaju jest skorelowana z rozmiarami tuby bukalnej. Mianowicie, czym szersza jest tuba, tym bardziej prawdopodobne jest że osobnik żywi się innymi niesporczakami, podczas gdy osobniki z mniejszymi aparatami bukalnymi żywią się raczej nicieniami i wrotkami, które są łatwiejsze do połknięcia niż często krępe niesporczaki. Studium rozmiarów ciała osobników *Diaforobiotus islandicus* [65], gatunku zamieszkującego arktyczną tundrę, ujawniło iż niesporczaki osiągają większe rozmiary w pobliżu kolonii alczyków. Zinterpretowaliśmy ten wynik jako efekt użyźniania ubogich gleb tundry poprzez guano tych ptaków morskich, które udostępnia dodatkowe nutrieny organizmom zasiedlającym te obszary. Wielkoskalowe badania ekologiczne kostarykańskich niesporczaków [42] pokazały że spośród wielu zanalizowanych czynników na różnorodność niesporczaków najbardziej wpływa wysokość nad poziomem morza. Związek ten ma charakter paraboliczny, z największą bioróżnorodnością zanotowaną na pośrednich wysokościach pomiędzy 1 400 ad 2 000 m n.p.m. Ponadto, co ciekawe, istotnie wyższa proporcja próbek zawierających niesporczaki została zebrana w rejonach miejskich i rolniczych niż w środowiskach naturalnych, co może być wynikiem tego, że ekosystemy antropogeniczne są bardziej mozaikowe i z tego względu oferują one większą różnorodność siedlisk w porównaniu do otoczenia naturalnego. Inne badania ekologiczne, tym razem przeprowadzone wzdłuż dwóch równoległych transektów wysokościowych na Spitsbergenie (Archipelag Svalbard) [63], pokazały iż różne gatunki niesporczaków wykazują różne zależności z wysokością nad poziomem morza, jednak całościowo silnego związku pomiędzy bogactwem gatunkowym a wysokością nie stwierdzono. Badania te pokazały także, iż istnieje istotny pozytywny wpływ kolonii ptaków morskich na bioróżnorodność niesporczaków, co komplementuje odkrycia dotyczące guano i rozmiaru ciała niesporczaków opisane powyżej [65]. Wreszcie badania eksperymentalne na *Thulinus ruffoi* [68], gatunku niesporczaka wyizolowanego z osadu w oczyszczalni ścieków, pozwoliły na oznaczenie dawki LC₅₀ amoniaku i tym samym przetestowanie czy gatunek ten mógłby być wykorzystany jako bioindykator jakości wody. Ponieważ normy zawartości amoniaku w wodach opuszczających oczyszczalnię ścieków są zazwyczaj kilkukrotnie niższe niż oznaczona wartość LC₅₀ dla *T. ruffoi*, gatunek ten nie nadaje się na bioindykatora w oczyszczalniach ścieków.

Moja praca badawcza z zakresu ekologii ewolucyjnej dotyczy głównie tematyki doboru płciowego przy wykorzystaniu trojszyka gryzącego (*Tribolium castaneum*) jako modelu. Jej efektem jest, jak do tej pory, osiem publikacji (wszystkie wydane po uzyskaniu stopnia naukowego doktora) w prestiżowych czasopismach ewolucyjnych i interdyscyplinarnych, w tym w dwóch czołowych wydawnictwach: *Nature* [67] i *Science* [45]. W mojej pierwszej pracy z wykorzystaniem trojszyka [38] został zbadany wpływ chowu wsobnego na sukces reprodukcyjny samców bez wewnątrzplciowej konkurencji oraz w jej obliczu. Pomimo, że wsobne i kontrolne samce radziły sobie równie dobrze, gdy były monogamicznie skojarzone z (kontrolnymi) samicami, a plemniki obu typów samców nie różniły się żywotnością, wsobne

samce przegrywały w konkurencji plemników, a same plemniki miały mniej jednorodną długość w porównaniu do plemników samców kontrolnych. Tak więc studium to pokazało, że depresja wsobna może być zwielokrotniona w warunkach zwiększonej konkurencyjności. W drugiej publikacji [40] zbadano odpowiedź samic i samców na eksperymentalnie zróżnicowane poziomy doboru i konfliktu płciowego, które zostały osiągnięte za pomocą dywergentnych operacyjnych proporcji płci (tj. linii ze znaczną przewagą proporcji samic lub samców w każdym pokoleniu eksperymentu). Po dwudziestu pokoleniach takiej ewolucji eksperymentalnej, samice z linii „samiczych” stały się wrażliwe na wielokrotne kojarzenia, podczas gdy samice z linii „samczych” nie wykazały żadnych różnic w dostosowaniu, niezależnie od liczby samców z którymi były skojarzone. Równoległe analizy wskazały, że samce również odpowiedziały na ewolucję eksperymentalną: osobniki z linii „samczych” osiągały istotnie wyższy sukces reprodukcyjny, gdy konkurowały o samicę z samcem kontrolnym w porównaniu do samców z linii „samiczych”. Samce z linii „samczych” były bardziej skore do kopulacji oraz kopulowały dłużej niż samce z linii „samiczych”, a jednocześnie nie wykryto różnic w konkurencyjności plemników pomiędzy dwoma reżimami eksperymentalnymi. Sugeruje to, że różnice w dostosowaniu wynikały z zachowań przedkopulacyjnych i kopulacyjnych samców. Linie ewolucyjne stworzone na potrzeby tego studium były w późniejszym czasie wykorzystane także do testowania rozmaitych hipotez wiążących się z rozrodem płciowym (publikacje [54], [58] i [67]). Ponadto, równoległe do linii z dywergentnymi proporcjami płci, stworzyłem i utrzymywałem również linie różniące się typem kojarzeń – linie monogamiczne i poliandryczne – które także zostały wykorzystane do przetestowania kilku hipotez ewolucyjnych (publikacje [57], [66] and [67]).

W artykułach [54] oraz [66] przedstawiono badania nad inwestycją w cechy immunologiczne obydwu płci poddanych zróżnicowanej sile doboru płciowego (wykorzystując odpowiednio linie z dywergentnymi proporcjami płci i typami kojarzeń). U trojszyków ze wszystkich linii została zbadana odporność na endopasożyta *Paranosema whitei* oraz aktywność fenoloksydazy (enzymu o znaczeniu immunologicznym). W obydwu pracach pokazano, iż przeżywalność zainfekowanych trojszyków nie różniła się pomiędzy reżimami ewolucji eksperymentalnej ani między płciami. Jednakże wykryto istotnie wyższą aktywność fenoloksydazy u samic poliandrycznych w porównaniu do samic monogamicznych [66], ale podobny wzorec nie został zaobserwowany w liniach ze zróżnicowaną proporcją płci [54] (co można tłumaczyć większymi różnicami w sile doboru płciowego w pierwszym eksperymencie). Usunięcie doboru płciowego poprzez narzucenie monoandrii wydaje się więc niwelować różnice w inwestycji w odporność między płciami (generalnie samice przejawiają wyższą aktywność fenoloksydazy). Sugeruje to, iż samice mogą utrzymywać wyższą aktywność fenoloksydazy aby przeciwdziałać szkodliwym efektom kojarzeń z wieloma samcami w postaci infekcji czy uszkodzeń mechanicznych. W pracy [57] sprawdzono czy trajektorie ewolucyjne mogą się zmieniać na skutek czynników środowiskowych i w związku z tym zwiększać ryzyko ekstynkcji, co jest coraz bardziej istotnym problemem ze względu na utratę siedlisk naturalnych spowodowaną działalnością człowieka. Linie, które ewoluowały przez trzydzieści dziewięć pokoleń pod poliandrycznym lub monogamicznym systemem kojarzeń zostały wykorzystane do

zbadania wpływu pokarmu o niskiej i standardowej jakości (warunki stresowe *versus* łagodne) na sukces reprodukcyjny trojszyków skrzyżowanych pomiędzy liniami różniącymi się historią siły doboru płciowego. Została wykryta wyraźna interakcja pomiędzy jakością pożywienia a historią doboru samic i samców, co sugeruje że dynamika kosztów oraz korzyści płynących z przystosowań płciowych może podlegać silnym modyfikacjom przez jakość środowiska. Celem eksperymentów opisanych w artykule [58] było zbadanie adaptacji do poliandrii poprzez kojarzenia trojszyków (z historią trzydziestu sześciu pokoleń ewolucji eksperymentalnej ze zróżnicowaną siłą doboru płciowego) z osobnikami kontrolnymi (aby wykluczyć potencjalne efekty koewolucji płci). Sukces reprodukcyjny chrząszczy obojga płci oraz pochodzących z reżimów mono- i poliandrycznego, został oszacowany poprzez kojarzenia mono- i poliandryczne. Samice i samce z linii poliandrycznych miały więcej potomstwa w kojarzeniach z wieloma samcami, ale w kojarzeniach monogamicznych nie wykryto różnic pomiędzy reżimami selekcyjnymi ani u samic ani u samców. Dalsze eksperymenty sugerują, że przystosowania do poliandrii u obydwu płci są korzystne tylko wtedy, gdy dozwolony jest wybór partnera i konkurencja między osobnikami. Innymi słowy, studium wykazało że korzyści mające płynąć z ewolucyjnych przystosowań do poliandrii zależą od dostępności wielu partnerów.

Jednakże moje najważniejsze prace na trojszykach dostarczyły dowodów eksperymentalnych na to, że dobór płciowy może zapobiegać ekstynkcji [67] oraz że chów wsobny może wpływać na ewolucję promiskuityzmu samic [45]. W studium dotyczącym doboru płciowego i ekstynkcji [67] zbadano czy rozmnażanie płciowe może dostarczać korzyści ewolucyjnych, które mogłyby wyjaśnić utrzymywanie się w przyrodzie tego typu reprodukcji pomimo kosztów jakie ono ze sobą niesie. Wysunięto przypuszczenie, że koszty mogłyby być zniwelowane, jeżeli istnienie płci implikuje dobór płciowy, który usuwa powszechne ograniczenie dostosowania jakim jest obciążenie mutacyjne. W doborze płciowym konkurencja (zazwyczaj) pomiędzy samcami oraz wybór partnera (zazwyczaj) przez samice wspólnie ograniczają sukces reprodukcyjny, na skutek czego tylko część samców zostaje ojcami. Jeżeli więc sukces reprodukcyjny samców zależy od ich kondycji, która z kolei jest zależna od wielkości obciążenia mutacyjnego, to dobór płciowy – poprzez tzw. „przechwyt genowy” – powinien skompensować koszt płci. W pracy przetestowano więc tę hipotezę eksperymentalnie, poprzez zbadanie czy populacje różniące się historią ewolucji w warunkach słabego i silnego doboru płciowego wykazują również zróżnicowany poziom obciążenia mutacyjnego, który przejawia się różnym tempem ekstynkcji. Najpierw populacje trojszyka były poddane ewolucji eksperymentalnej z różnym nasileniem doboru płciowego przez sześć do siedmiu lat (połowa linii to linie opisane wyżej w publikacji [40], a drugą połowę stanowiły linie w których utrzymywane były różne systemy kojarzeń – mono- i poliandria). Następnie, przez niemal trzy lata prowadzono chów wsobny, aby stopniowo ujawnić obciążenie mutacyjne (chów wsobny powoduje wzrost homozygotyczności, która wystawia recesywne szkodliwe allele na działanie doboru naturalnego). Linie, które wcześniej doświadczyły silnego doboru płciowego były bardziej odporne na wymieranie pod działaniem chowu wsobnego (niektóre z linii przetrwały dwadzieścia pokoleń krzyżówek brat × siostra) niż linie z historią słabego lub zupełnie

wyłączonego doboru płciowego (wszystkie wymarły przed dziesiątym pokoleniem chowu wsobnego). Liczne mutacje o drobnych efektach rozproszone po genomie, mimo iż łącznie sumują się w znaczące obciążenie mutacyjne, mogą być trudne do usunięcia. Niniejsze studium wykazało jednak, że dobór płciowy może zredukować to obciążenie i dzięki temu poprawić dostosowanie populacji w obliczu stresu genetycznego.

Praca, w której zbadano korzyści płynące z rozwiążności płciowej samic [45] była zainspirowana dwiema moimi wcześniejszymi publikacjami: dotyczącymi depresji wsobnej [38] oraz szkodliwego wpływu poliandrii na samice [40]. Ponieważ samice mogą ponosić koszty na skutek promiskuityzmu, a równocześnie zapłodnienie jaj może być teoretycznie zapewnione poprzez jednego samca czy nawet pojedyncze kojarzenie, powszechność poliandrii w przyrodzie uznawana jest za poważny ewolucyjny problem. Wobec tego w pracy [45] najpierw przetestowano czy – jak to zostało pokazane już we wcześniejszych badaniach nad innymi gatunkami – wsobne samice mogą zwiększyć swoje dostosowanie poprzez poliandrię gdy istnieje ryzyko zapłodnienia genetycznie niekompatybilnymi haplotypami. Rzeczywiście, i w tym przypadku wykazano znaczące korzyści u wsobnych samic, które kojarzyły się z wieloma samcami, nawet jeżeli były one również wsobne i spokrewnione z samicą. Co jednak istotne, studium polegało na znalezieniu odpowiedzi na pytanie czy taka zmiana w proporcji kosztów i korzyści może wpłynąć na ewolucję zachowań rozrodczych samic. Aby więc to zbadać, pozwolono wsobnym populacjom ewoluować swobodnie przez piętnaście pokoleń, po których okazało się iż samice wykazywały się podwyższonym poziomem promiskuityzmu w porównaniu do samic kontrolnych (tj. niewsobnych). Innymi słowy, wyniki te ilustrują jak ten powszechny system kojarzeń, jakim jest poliandria, może wyewoluować, jeśli na przykład okresowe spadki liczebności populacji podnoszą ryzyko obniżenia dostosowania na skutek kojarzeń z samcami niosącymi genetycznie niekompatybilne allele. Co ciekawe, otrzymane wyniki pozornie stoją w sprzeczności z poprzednią pracą [40], która wykazała wyraźne koszty poliandrii w obrębie tego samego modelu badawczego. Jednakże w rzeczywistości obydwie publikacje pokazują, że poliandria może być zarówno szkodliwa jak i korzystna dla samic, a konkretny wynik zależy od określonych okoliczności ewolucyjnych.

Artykuły [38] oraz [40], pomimo że zostały opublikowane po uzyskaniu przeze mnie stopnia naukowego doktora, bazują głównie na dwóch rozdziałach z mojej rozprawy doktorskiej, z niewielkimi dodatkami poczynionymi w trakcie mojego stażu podoktorskiego. Badania opisane w pozostałych sześciu pracach na *Tribolium* opierają się na liniach selekcyjnych, które założyłem na początku studiów doktoranckich, jednakże testy hipotez opisane w tych pracach były wykonane w całości już po tym, gdy otrzymałem stopień naukowy doktora. Prace opublikowane w *Science* [45] i *Nature* [67] przyciągnęły uwagę krajowych i zagranicznych mediów. Artykuły prasowe opisujące jedno lub obydwa odkrycia zostały opublikowane między innymi w serwisach *BBC*, *NBC*, *The Washington Post*, *The Telegraph*, *Daily Mail* oraz w rozmaitych blogach internetowych komentujących bieżące wydarzenia naukowe. W związku z moimi

publikacjami udzieliłem także wywiadów dla *Polskiej Agencji Prasowej*, *Gazety Wyborczej* oraz *Radia Kraków*.

Poza wynikami mojej wieloletniej pracy nad trojszykami, opublikowałem także kilka artykułów wykorzystujących inne organizmy jako modele badawcze. Pierwsza publikacja [1] opisuje eksperyment terenowy, w którym przetestowano preferencje osiedlania się larw racicznicy zmiennej (*Dreissena polymorpha*) poprzez umieszczenie w jeziorze zabezpieczonych kratami (aby zapobiec drapieżnictwu) betonowych płyt z gładkimi i karbowanymi powierzchniami na okres kilku miesięcy. Oszacowanie zagęszczenia na obydwu typach powierzchni wykazało, że małże chętniej osadzały się na złożonych powierzchniach, co jest najprawdopodobniej przejawem strategii unikania drapieżników. W innej pracy [7] zbadana została płodność i konkurencyjność plemników młodych i starych samców rozkruszka hiacyntowego (*Rhizoglyphus robini*) w celu przetestowania hipotezy, że samice unikają zapłodnień przez stare samce (ponieważ z wiekiem samca genetyczna jakość jego gamet powinna spadać). Eksperymenty pokazały, że – wbrew przewidywaniom – nie ma statystycznie istotnego wpływu wieku samca na prawdopodobieństwo kojarzeń z dziewiczymi samicami, chociaż młode samce częściej kopulowały z zapłodnionymi już wcześniej samicami. Ponadto, młode samce wygrywały ze starymi w konkurencji plemników, co sugeruje iż poliandria może być efektywnym sposobem na uniknięcie zapłodnienia spermą starych samców. Wreszcie, brałem także udział w szeroko zakrojonych badaniach wykorzystujących narzędzia meta-analityczne [48] do przetestowania czy preferencje samic względem konkretnych fenotypów samczych przynoszą samicom korzyści w postaci zwiększonej atrakcyjności ich synów (model „fisherowski”), czy też w postaci ogólnego dostosowania potomstwa (model „dobrych genów”). Analiza dziewięćdziesięciu studiów empirycznych przeprowadzonych na pięćdziesięciu pięciu gatunkach wykazała istotną statystycznie odziedziczalność atrakcyjności samców (czyli poparcie dla modelu „fisherowskiego”) i równocześnie brak związku z cechami historii życiowych, które są bezpośrednio związane z dostosowaniem (tj. brak poparcia dla „dobrych genów”).

Moje badania zostały sfinansowane poprzez wiele grantów z różnych krajowych oraz zagranicznych źródeł. Jak dotąd byłem kierownikiem siedmiu projektów w ramach unijnego programu Synthesys oraz pojedynczych grantów z *Fundacji na rzecz Nauki Polskiej*, *Narodowego Centrum Nauki*, *Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego RP* oraz *Group of Eight* (Australia). Ponadto, byłem głównym wykonawcą w kilku projektach sfinansowanych przez *Natural Environment Research Council* (Zjednoczone Królestwo), *NCN* oraz *MNiSW*. Opublikowałem moje badania w 42 czasopismach, w łącznie 101 recenzowanych artykułach (79 indeksowanych w JCR + 22 w czasopismach lokalnych): 53 (33+20) przed i 48 (46+2) po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Moje publikacje wygenerowały łącznie 806 cytowań, w tym 543 bez autocytowań. Artykuły te mogą być widziane jako bezpośredni dowód na szeroki wachlarz współpracowników, zarówno krajowych jak i zagranicznych (łącznie współpracowałem z ponad dwudziestoma polskimi i trzydziestoma zagranicznymi badaczami z jedenastu krajów

reprezentujących pięć kontynentów). Moje osiągnięcia naukowe zostały docenione przez *Minister Nauki i Szkolnictwa Wyższego*, która w 2012 roku przyznała mi prestiżowe *Stypendium dla Młodych Wybitnych Naukowców*.

6. Omówienie pozostałych aktywności związanych z karierą akademicką

Poza działalnością *stricte* naukową, jestem zaangażowany także w inne aktywności akademickie takie, jak dydaktyka czy praca organizacyjna, doradcza i ekspercka.

Mam doświadczenie zarówno w wykładaniu jak i prowadzeniu ćwiczeń laboratoryjnych oraz zajęć terenowych w Polsce i Zjednoczonym Królestwie. Prowadziłem zajęcia głównie z zakresu ekologii ewolucyjnej oraz bioróżnorodności. Ponadto, opiekowałem się pięciorgiem magistrantów oraz czworgiem licencjatów, którzy z sukcesem obronili swoje prace dyplomowe. Wszyscy moi poprzedni licencjaci są obecnie na studiach magisterskich, a czworo z pięciorga moich dotychczasowych magistrantów – na studiach doktoranckich. Trzem z moich magistrantów za wybitne osiągnięcia zostało przyznane stypendium *Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego RP*. Co istotne, dwóch z moich licencjatów otrzymało „*Diamantowe Granty*”, które są obecnie realizowane pod moją opieką. Granty te, przyznawane przez MNiSW nie więcej niż setce wybitnych studentów rocznie, umożliwiają przyspieszenie kariery naukowej młodych i utalentowanych badaczy. Moje laboratorium odwiedzili krajowi (dwoje doktorantów i magistrantka) jak i zagraniczni stażyści (dwoje pracowników, doktorantka i dwoje magistrantów), którzy przyjechali do mnie aby nauczyć lub doszkolić się w zakresie systematyki niesporczaków i technik taksonomii integratywnej.

Jak dotąd zrecenzowałem trzydzieści pięć maszynopisów dla dziesięciu międzynarodowych czasopism naukowych, w tym dla tak prestiżowych tytułów jak *Evolution*, *Proceedings of the Royal Society B* czy *Zoological Journal of the Linnean Society*. Ponadto, jestem edytorem działu zajmującego się bezkręgowcami lądowymi w indeksowanym w JCR czasopiśmie *African Zoology*. W 2014 roku stworzyłem i od tego czasu prowadzę *Tardigrada Newsletter*, internetowy serwis, którego głównym celem jest podawanie referencji i linków do najnowszych publikacji naukowych o niesporczakach. Jednakże serwis ten zawiera także archiwa z listą literatury sięgające do początku wieku, książkę adresową z danymi tardigradologów oraz sekcję poświęconą sympozjom niesporczakowym.

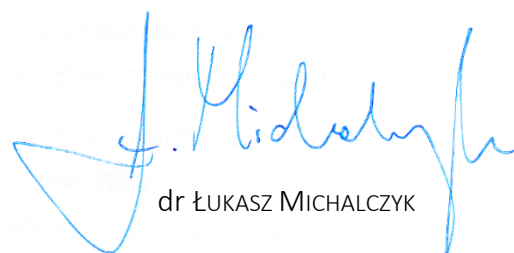
W 2013 zostałem wybrany spośród ponad trzystu kandydatów do *Rady Młodych Naukowców (RMN)*. RMN jest ciałem doradczo-opiniotwórczym *Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego*, powoływanym na dwuletnie kadencje. W 2015 zostałem nominowany na kolejną kadencję i tym razem zostałem także wybrany na jednego z dwóch wiceprzewodniczących Rady. RMN składa się z osiemnastu członków, którzy są przedstawicielami głównych gałęzi nauki jak i różnych typów jednostek naukowych i regionów geograficznych w Polsce. Głównym zadaniem Rady jest opiniowanie aktualnie powstających aktów prawnych przed ich implementacją oraz sugerowanie nowych rozwiązań Ministrowi oraz innym ciałom

kształtującym naukę w Polsce. Jako doradca, byłem zaangażowany w wiele działań, ale przede wszystkim brałem udział w dyskusjach w Sejmie dotyczących *Ustawy prawo o szkolnictwie wyższym, Ustawy o zasadach finansowania nauki* oraz *Ustawy o stopniach i tytułach naukowych oraz stopniach i tytułach w zakresie sztuki*. Ponadto, przewodziłem zespołom roboczym w obrębie RMN, które pracowały nad rekomendacjami dotyczącymi programów grantowych MNiSW oraz NCN. Współorganizowałem także cykl seminariów „*Mechanizmy finansowania badań młodych naukowców w Polsce*”, przeznaczonych dla młodych naukowców w całym kraju.

Od 2012 jestem członkiem *Komitetu Okręgowego Olimpiady Biologicznej w Krakowie* (corocznego konkursu dla uczniów szkół średnich). Każdego roku recenzuję po kilka prac nadesłanych przez uczestników i jestem także członkiem panelu egzaminującego uczniów, których projekty uzyskały najwyższe oceny. W 2013 roku koordynowałem *Małopolską Noc Naukowców (MNN)* w Instytucie Zoologii, a w latach 2014–2015 – na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UJ (koordynowałem wydarzenie w pięciu instytutach, które składają się na Wydział). MNN jest wydarzeniem organizowanym jako część *Europejskiej Nocy Naukowców* pod auspicjami Komisji Europejskiej. Łącznie koordynowałem niemal dwieście różnych wydarzeń (takich jak wykłady, pokazy laboratoryjne, warsztaty i gry), w których udział wzięło prawie cztery tysiące uczestników (głównie młodzieży szkolnej). Byłem także konsultantem i współautorem stałej wystawy o niesporczakach w *Centrum Edukacji Przyrodniczej UJ*.

Kilka dni temu zostałem powołany na czteroletnią kadencję do *Komitetu Ewaluacji Jednostek Naukowych (KEJN)* przy MNiSW. Głównym zadaniem Komitetu jest zaproponowanie kryteriów i parametrów kompleksowej oceny jednostek naukowych w Polsce (uniwersytetów, instytutów badawczych, itd.) oraz przeprowadzenie ich ewaluacji co najmniej raz na cztery lata. Wyniki ewaluacji wpływają na wysokość dotacji rządowych przekazywanych jednostkom naukowym. Zostałem także zaproszony do *Komitetu Międzynarodowego*, który zajmuje się organizacją *XIV Międzynarodowego Symposium Tardigradologicznego*, które odbędzie się w Kopenhadze latem 2018 roku

Kraków, 31.12.2016



dr ŁUKASZ MICHALCZYK