

Tytuł pracy Doktorskiej: Rodzaj *Paramacrobotus* (Tardigrada): taksonomia integratywna, biogeografia i oraz wpływ czynników stresowych na wybrane gatunki.

*Paramacrobotus* stanowi jeden z rodzajów należących do typu Tardigrada (grupy zwierząt potocznie nazywanej niesporczakami lub misiami wodnymi). Rodzaj ten został utworzony ponad dekadę temu. Poprzednio, przedstawiciele tego rodzaju byli zaliczani do kompleksu *richtersi-areolatus* wewnątrz rodzaju *Macrobotus*, by w końcu, przy pomocy technik analizy molekularnej i filogenetycznej zostać wyodrębnionymi jako nowy rodzaj.

Jak sugeruje tytuł, celem niniejszej rozprawy były badania rodzaju *Paramacrobotus*, z uwzględnieniem zastosowania taksonomii integratywnej w opisie nowych dla wiedzy gatunków, ustalenie potencjalnych zasięgów występowania gatunków partenogenetycznych oraz sprawdzenie zasadności hipotezy „wszystko jest wszędzie” względem badanych gatunków, zbadanie wpływu czynników stresowych na gatunek *Pam. experimentalis*, badania nad rozmieszczeniem poszczególnych gatunków, badania mikrobiomu, a także przyjrzenie się historiom życiowym poszczególnych gatunków z uwzględnieniem zdolności do anhydrobiozy. Ponadto sporządzony został nowy klucz diagnostyczny dla rodzaju *Paramacrobotus* wykorzystujący cechy morfologiczne i morfometryczne osobników dorosłych i jaj.

Wykorzystując techniki taksonomii integratywnej (klasyczna morfologia i morfometria oraz badania genetyczne), nowy gatunek, *Pam. gadabouti*, został opisany na podstawie materiału pochodzącego z Ribeiro Frio na Maderze. Ponadto, eksperymentalnie zbadano sposób rozmnażania się tego gatunku, co potwierdziło wzajemne powiązania między szerokim rozprzestrzenieniem a partenogenezą.

W kolejnej pracy przeanalizowano rozmieszczenie oraz zróżnicowanie genetyczne dwóch partenogenetycznych gatunków z rodzaju *Paramacrobotus*, tj. *Pam. gadabouti* oraz *Pam. fairbanksi* potwierdzając prawdziwość hipotezy „wszystko jest wszędzie” przynajmniej dla niektórych gatunków niesporczaków. Modelowanie niszy środowiskowych wykonane przy użyciu narzędzia MaxEnt, potwierdza szeroki zasięg obydwu partenogenetycznych gatunków.

W kolejnej publikacji zbadano przeżywalność niesporczaków z gatunku *Pam. experimentalis*, wystawianych na działanie różnych stężeń (0,25%; 0,50% oraz 1,00%) nadchloranu magnezu (uwzględniając stężenia zaobserwowane w marsjańskim regolicie) w dwóch różnych przedziałach czasowych (24h i 72h). W próbach, w których osobniki zostały poddane 24-godzinnej ekspozycji, kolejno 33,3%; 16,7% oraz 0% osobników pozostało

aktywnych w stężeniach 0,25%; 0,50% oraz 1,00%. Jednakże, ponad 75% z nich powróciło do stanu aktywnego po przeniesieniu ich do medium hodowlanego (93,3%; 76,7% oraz 86,7% osobników w stężeniach 0,25%; 0,50% oraz 1,00%). W próbach, w których osobniki zostały poddane 72-godzinnej ekspozycji, kolejno 30,0%; 26,7% oraz 0% osobników pozostało aktywnych w stężeniach 0,25%; 0,50% oraz 1,00%. Po przeniesieniu ich do medium hodowlanego kolejno 83,3%; 86,7% oraz 10,0% osobników w stężeniach 0,25%; 0,50% oraz 1,00% powróciło do stanu aktywnego.

W następnej pracy zbadano zmiany w ultrastrukturze komórek spichrzowych zarówno u aktywnych osobników, jak i u osobników w anhydrobiozie. Zbadano też poziom syntezy białek szoku cieplnego (Hsp27, Hsp60 oraz Hsp70) u aktywnych osobników *Pam. experimentalis* wystawionych na podwyższoną temperaturę (35 °C, 37 °C, 40 °C i 42 °C) przez pięć godzin, w porównaniu do optymalnej temperatury hodowlanej (20 °C). Pojedyncze komórki spichrzowe z grupy kontrolnej, znajdowały się w jamie ciała, pośród narządów wewnętrznych, przyjmując kuliste i ameboidalne kształty. Niewielkie, choć zauważalne zmiany w mitochondriach zostały zaobserwowane u osobników aktywnych wystawionych na temperaturę 35 °C. Znaczące zmiany w ultrastrukturze komórek spichrzowych zaobserwowane zostały u osobników poddanych temperaturze 37 °C. Zaobserwowano u nich liczne, uszkodzone mitochondria z zauważalnym zanikiem grzebieni oraz pojawieniem się struktur autofagicznych. Jeszcze więcej zmian zaobserwowano w temperaturze 40 °C, objawiających się nieregularnym kształtem komórek spichrzowych, uszkodzeniami organelli komórkowych oraz zwiększoną obecnością ciał autofagicznych i autolizosomów w mitochondriach. Jednakże najbardziej drastyczne zmiany zaobserwowano w 42 °C, gdzie nastąpiła pełna degradacja komórek i organelli, wskazująca na wystąpienie martwicy, do poziomu utrudniającego rozpoznanie komórek. Jednocześnie, osobniki w anhydrobiozie, poddane działaniu podwyższonej temperatury, nie wykazywały jakichkolwiek negatywnych zmian w komórkach spichrzowych na poziomie ultrastrukturalnym. Spośród pięciu zastosowanych w badaniu temperatur, trzy uznane za najważniejsze zostały wybrane (20 °C – optymalna temperatura do hodowli, 35 °C – najwyższa temperatura, po której nastąpił powrót osobników do aktywności oraz 42 °C – gdzie zaobserwowana została pełna martwica) i wykorzystane do określenia poziomów białek szoku cieplnego (Hsp27, Hsp60 oraz Hsp70) w aktywnych osobnikach. Wszystkie próbki wskazywały na wyraźny wzrost poziomu ekspresji białek wraz ze wzrostem temperatury.

W ostatniej pracy składającej się na rozprawę doktorską zebrano całkowitą dostępną wiedzę na temat rodzaju *Paramacrobionus*. Podsumowując więc, do rodzaju *Paramacrobionus* należy

obecnie 45 gatunków (wliczając w to *Pam. gadabouti* dodany w ramach niniejszej pracy), które można znaleźć na całym świecie, popierając tezę, że rodzaj ten jest kosmopolityczny. W rodzaju występują zarówno partenogenetyczne, jak i obupłciowe gatunki, wykazujące zarówno krótką jak i długą długość życia. Gatunki w tym rodzaju mogą być wszystkożerne (jednak z przewagą drapieżników), a odżywiają się między innymi, cyjanobakteriami, algami, grzybami, wrotkami, nicieniami oraz niesporczakami. Gatunki z tego rodzaju charakteryzują się dość dobrą zdolnością do kryptobiozy, dzięki czemu często stanowią obiekt badań w pracach nad anhydrobiozą.