

Autoreferat – wersja polska

1. Imię i Nazwisko

Piotr Łukasik

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

26.04.2008-30.09.2011: **Studia doktoranckie (D.Phil. in Zoology)** w Department of Zoology, University of Oxford, Oksford, Wielka Brytania. Tytuł pracy doktorskiej: „*The facultative endosymbionts of grain aphids and the horizontal transfer of ecologically important traits*”. Promotorzy: Prof. H. Charles J. Godfray, Dr. Julia Ferrari. Studia zakończyłem w dniu 30.06.2011. Tytuł formalnie przyznano podczas ceremonii w dniu 08.06.2013.

01.10.2001-06.10.2006: **Studia Matematyczno-Przyrodnicze, specjalność Biologia**: pięcioletnie jednolite studia magisterskie, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków. Praca magisterska „*Benefits and costs of adaptation to elevated copper levels in the flour beetle, Tribolium confusum*” przygotowana w zakładzie Ekotoksykologii w Instytucie Nauk o Środowisku pod opieką prof. dr hab. Ryszard Laskowskiego. Studia ukończyłem z wynikiem bardzo dobrym, uzyskując tytuł magistra biologii, w dniu 06.10.2006.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Od 01.07.2019: **Adiunkt badawczy**, kierownik nowo utworzonego zespołu badawczego Ewolucji Symbioz. Instytut Nauk o Środowisku, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków.

Od 01.10.2018 do 30.06.2019: **Researcher**, zatrudniony w projekcie badawczym Insect Biome Atlas realizowanym w Department of Bioinformatics and Genetics, Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Sweden. Kierownik zespołu - prof. Fredrik Ronquist.

Od 11.09.2014 do 08.10.2018: **Staż podoktorski**, Division of Biological Sciences, University of Montana, Missoula, MT, U.S.A. Kierownik zespołu – dr John P. McCutcheon

Od 01.10.2013 do 30.11.2013: **Krótkoterminowy staż podoktorski**, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Tsukuba, Japan. Opiekun stażu – dr Ryuichi Koga

Od 19.09.2011 do 19.07.2014: **Staż podoktorski**, Department of Biology, Drexel University, Philadelphia, PA, U.S.A. Kierownik zespołu - dr Jacob Russell

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.):

Na osiągnięcie naukowe składa się cykl czterech publikacji poświęcony ewolucji wyspecjalizowanych mikroorganizmów symbiotycznych cykad. Łączny „impact factor” (IF zgodny z rokiem publikacji wg. Web of Science Core Collection) wynosi 28.271, łączny 5-letni IF 30.333, a łączna liczba punktów MNiSW – 150. Wkład i udział procentowy w poszczególnych pracach podano przy każdej publikacji,

natomiast oświadczenia współautorów publikacji dotyczące ich współudziału dołączone są do kopii każdej z publikacji.

a) tytuł osiągnięcia naukowego

Zróźnicowanie i ewolucja symbioz cykad

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

Dla każdej z prac podałem Impact Factor dla ostatniego roku dla którego te dane są dostępne (2017 - IF2017), jak również aktualny 5-letni IF (IF5). Punkty MNiSW podałem według tabeli z roku 2016. Ilość cytowań podałem według Web of Science (WoS) i Google Scholar (GS) z dnia 27.04.2019 r.

P01. Łukasik P., Nazario K., Van Leuven J.T., Campbell M.A., Meyer M., Michalik A., Pessacq P., Simon C., Veloso C., McCutcheon J.P. (2018) Multiple origins of interdependent endosymbiotic complexes in a genus of cicadas. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115(2): E226-E235
IF2017 = 9,504; IF5 = 10,359; Punkty MNiSW = 45; Cytowania-WoS = 7; Cytowania-GS = 12.

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- Współustaleniu koncepcji i ustaleniu szczegółowego planu badań
- Pozyskaniu okazów (chilijskie cykady ze słabo poznanego rodzaju *Tettigades*), zarządzaniu próbami
- Samodzielnej analizie różnorodności szczepów mikroorganizmów w oparciu o metody NGS (zaplanowanie i wdrożenie niestandardowego protokołu analiz, przygotowanie bibliotek do sekwencjonowania, analiza, wizualizacja i interpretacja danych)
- Samodzielnym przygotowaniu większości bibliotek metagenomicznych
- Samodzielnej analizie bioinformatycznej danych metagenomicznych (składanie metagenomów, pełna anotacja genomów przy użyciu samodzielnie napisanych skryptów, analiza porównawcza genomów, analizy filogenomiczne, wizualizacja danych przy użyciu samodzielnie napisanych skryptów)
- Analizie prób przy użyciu technik mikroskopii fluorescencyjnej
- Zarządzaniu danymi (depozycja w publicznych bazach danych)
- Samodzielnym przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, przygotowaniu kolejnych wersji w oparciu o komentarze współautorów
- Pełnieniu obowiązków autora korespondencyjnego: złożyłem manuskrypt do druku i zająłem się dalszymi etapami związanymi z jego publikacją (ustosunkowanie się do uwag recenzentów, korespondencja z redaktorem czasopisma, zatwierdzenie ostatecznej wersji)
- Pozyskaniu części środków na realizację projektu (grant National Geographic Society)

Mój udział procentowy szacuję na 65%.

P02. Campbell M.A.*, **Łukasik P.***, Meyer M.M., Buckner M., Simon C., Veloso C., Michalik A., McCutcheon J.P. (2018) Changes in endosymbiont complexity drive host-level compensatory adaptations in cicadas. *mBio* 9: e02104-02118 (* równy współudział)

IF2017 = 6,689; IF5 = 7,140; Punkty MNiSW = 45; Cytowania-WoS = 0; Cytowania-GS = 0.

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- Współudziale w ustaleniu koncepcji i szczegółowego planu badań
- Zbiorze, identyfikacji i zarządzaniu częścią prób (chilijskie cykady z rodzaju *Tettigades*)
- Koordynacji analizy różnorodności szczepów mikroorganizmów w oparciu o metody NGS (zaplanowanie i wdrożenie niestandardowego protokołu analiz, przygotowanie części bibliotek do sekwencjonowania, analiza, wizualizacja i interpretacja danych)
- Udziału w analizie mikroskopowej transmisji symbiontów
- Współtworzeniu pierwszej wersji artykułu i współuczestnictwie w przygotowaniu każdej z kolejnych wersji

- Pozyskaniu części środków na realizację projektu (grant American Genetics Association).

Mój udział procentowy szacuję na 33%.

P03. Matsuura Y., Moriyama M., Łukasik P., Vanderpool D., Tanahashi M., Meng X.-Y., McCutcheon J.P., Fukatsu T. (2018) Recurrent symbiont recruitment from fungal parasites in cicadas. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115(26): E5970-E5979

IF2017 = 9,504; IF5 = 10,359; Punkty MNiSW = 45; Cytowania-WoS = 5; Cytowania-GS = 11.

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- Współdziałanie w ustaleniu planu badań
- Samodzielnej pracy laboratoryjnej z próbkami metagenomicznymi (izolacja DNA, przygotowanie bibliotek do sekwencjonowania)
- Samodzielnej analizie bioinformatycznej danych metagenomicznych (identyfikacja różnorodności mikroorganizmów w próbach, anotacja wybranych genomów, analizy filogenomiczne, częściowe analizy porównawcze, zarządzanie i publikacja danych, wizualizacja i interpretacja uzyskanych wyników)
- Uczestnictwie w przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, komentowaniu kolejnych wersji

Mój udział procentowy szacuję na 18%.

P04. Łukasik P., Chong R.A., Nazario K., Matsuura Y., Bublitz D., Campbell M.A., Meyer M., Van Leuven J.T., Pessacq P., Veloso C., Simon C., McCutcheon J.P. (2019) One hundred mitochondrial genomes of cicadas. *Journal of Heredity* 110(2): 247-256

IF2017 = 2,574; IF5 = 2,475; Punkty MNiSW = 20; Cytowania-WoS = 0; Cytowania-GS = 0.

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- Samodzielnym ustaleniu koncepcji i szczegółowego planu badań
- Pozyskaniu znaczącej części okazów
- Samodzielnym przygotowaniu bibliotek metagenomicznych dla znacznej części prób i współdziałanie w przygotowaniu większości pozostałych
- Samodzielnej pełnej analizie bioinformatycznej danych, oraz zarządzaniu danymi (depozycja w publicznych bazach danych)
- Samodzielnym przygotowaniu pierwszej kompletnej wersji manuskryptu, nie licząc części dotyczącej tempa ewolucji, oraz przygotowaniu kolejnych wersji w oparciu o komentarze współautorów.
- Pełnieniu obowiązków autora korespondencyjnego: złożyłem manuskrypt do druku i zająłem się dalszymi etapami związanymi z jego publikacją (ustosunkowanie się do uwag recenzentów, korespondencja z redaktorem czasopisma, zatwierdzenie ostatecznej wersji).
- Pozyskaniu części środków na realizację projektu.

Mój udział procentowy szacuję na 70%.

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

Streszczenie

Osiągnięcie habilitacyjne jest wynikiem badań które przeprowadziłem w latach 2014–2018 w ramach stażu podoktorskiego w laboratorium dr Johna McCutcheona z University of Montana w Missoula, MT, USA. Nadrzędnym celem mojego projektu było zbadanie procesów ewolucyjnych kształtujących dziedziczne endosymbiozy odżywcze cykad, owadów polegających na wyspecjalizowanych mikroorganizmach symbiotycznych w celu suplementacji odżywczej ich nie zrównoważonej diety złożonej z soku roślinnego.

W pierwszym artykule tworzącym ten zbiór prac **szczegółowo opisałem i omówiłem unikalne procesy dotyczące ewolucji genomów bakterii *Hodgkinia*** – wyspecjalizowanego endosymbionta odżywczego w rodzaju chilijskich cykad (*Tettigades*). Opisuję, jak ten dziedziczny symbiont wielokrotnie ewoluował („dzielił się”) na kompleksy wielu odmiennych genetycznie i cytologicznie linii, których genomy mogą kodować zaledwie 20 genów każdy, ale które uzupełniają się wzajemnie, aby zapewnić wymagane przez gospodarza funkcje symbiotyczne. Omawiam naturę i mechanizmy tych nietypowych podziałów, które nie mają znanego odpowiednika w żadnych innych systemach biologicznych (P01).

Następnie, pracując na zasadzie współ-pierwszego autorstwa z Matthew Campbell'em, doktorantem z laboratorium który koncentrował się na opisie ewolucji znacznie bardziej rozdrobnionych symbioz u daleko spokrewnionych cykad z rodzaju *Magiccada*, **zbadaliśmy eksperymentalnie jak cykady radzą sobie z międzypokoleniową transmisją najbardziej podzielonych kompleksów symbiotycznych**. Wykazaliśmy, że podczas transportu pofragmentowanych kompleksów do jaj, cykady unikają znacznych zmian w proporcjach linii komórkowych dzięki znacznemu zwiększeniu całkowitej liczby transmitowanych komórek *Hodgkinia* (P02).

Przyłączyłem się również do projektu przeprowadzonego przez grupę japońskich naukowców pod kierunkiem dr Yu Matsuury, obecnie z Uniwersytetu Ryukyus w Japonii, który przeprowadził badania symbioz w imponującej kolekcji japońskich cykad przy użyciu klasycznych technik molekularnych i mikroskopii. Poprzez sekwencjonowanie i analizę metagenomów większości zebranych przez nich gatunków, **stworzyłem ramy filogenetyczne dla opisu serii niezależnych zdarzeń zastępowania *Hodgkinii* przez grzyby patogenne** z rodzaju *Ophiocordyceps*, które następnie ewoluowały w dziedzicznych mutualistów zapewniających niezbędne składniki odżywcze (P03).

Od tego czasu prowadziłem badania symbioz w szerszym zakresie gatunków cykad reprezentujących znaczną część różnorodności biologicznej tej grupy. Jednym z pierwszych produktów tych trwających prac jest **zestaw ponad stu genomów mitochondrialnych Cicadoidea, które zebrałem, annotowałem i porównywałem**. Wykazałem, że genomy mitochondrialne w tej grupie owadów zachowują strukturę, natomiast ich tempo ewolucji różni się pomiędzy grupami cykad, i koreluje z procesami ewolucyjnymi dotyczącymi ich symbiontów (P04). Realizując ten projekt stworzyłem cenne ramy filogenetyczne do dalszego, systematycznego porównywania symbioz cykad, które ja i współpracownicy prowadzimy obecnie.

Wprowadzenie

Owady żywiące się wyłącznie pokarmem niezrównoważonym pod względem odżywczym, takim jak krew zwierzęca lub sok roślinny, nie mogą przetrwać bez suplementacji niezbędnymi aminokwasami i witaminami zapewnianymi przez mikroorganizmy symbiotyczne. W wielu przypadkach, te symbionty to wysoko wyspecjalizowane mikroorganizmy (bakterie lub grzyby), które żyją w dedykowanych komórkach i narządach gospodarza (znanych bakteriocyty lub bakteriomy), i były przekazywane przez matki kolejnym pokoleniom owadów, ko-dywersyfikując z gospodarzami, przez bardzo długi czas, nawet 300 milionów lat w niektórych przypadkach (Moran et al. 2008, Annu Rev Genet 42: 165-90). W tym czasie, mikroorganizmy te utraciły zdolność do życia poza dedykowanymi tkankami owadów, w wielu przypadkach stając się ściśle zależne od gospodarzy, nawet w przypadku realizacji najbardziej podstawowych funkcji komórkowych. Jest to spowodowane utratą bardzo dużej części startowego zestawu genów, szacowaną na ponad 95% w niektórych przypadkach. Jednocześnie owady wyewoluowały szereg przystosowań umożliwiających utrzymywanie przy życiu i przekazywanie kolejnym pokoleniom tych nieefektywnych, zdegenerowanych symbiontów dostarczających niezbędne składniki odżywcze.

Zainteresowania badawcze mojego opiekuna naukowego i współpracowników z University of Montana koncentrowały się na ewolucji genomicznej symbiontów które tworzyły symbiozy z owadami przez bardzo długi czas, w tym również tych, które infekują cykady (Insecta: Hemiptera: Cicadidae). Wspólny przodek wszystkich żyjących obecnie cykad, który żył ponad 100 milionów lat temu, był gospodarzem dwóch endosymbiontów odżywczych. *Candidatus Sulcia muelleri*, określanej w dalszej części tekstu jako *Sulcia* (Bacteroidetes) skolonizował wspólnego przodka wszystkich żyjących obecnie piewików (Auchenorrhyncha). U cykad, *Sulcia* syntetyzuje osiem niezbędnych aminokwasów; zestaw genów i

funkcji tego wolno ewoluującego symbionta różni się nieznacznie pomiędzy gatunkami cykad i pokrewnych piewików. Drugi endosymbiont odżywczy, *Candidatus Hodgkinia cicadicola* określane dalej jako *Hodgkinia* (Alphaproteobacteria), skolonizował wspólnego przodka wszystkich żyjących obecnie cykad. Jego niezwykle kompaktowy genom (ok. 150 tysięcy par zasad u pierwszych scharakteryzowanych szczepów) zawiera geny uczestniczące w biosyntezie dwóch niezbędnych aminokwasów i trzech witamin (McCutcheon et al. 2009, PNAS 106:15394-9). Szybkość ewolucji sekwencji nukleotydu genomu *Hodgkinia* jest o kilka rzędów wielkości wyższa niż w przypadku *Sulcia*. Natomiast **najbardziej uderzające jest to, że genom *Hodgkinia* ma tendencję do ulegania dramatycznym zmianom w organizacji, nie mających odpowiednika u żadnych innych znanych organizmów.**

Proces ten po raz pierwszy zademonstrował dr John McCutcheon i dwóch studentów z jego laboratorium, James T. Van Leuven i Matthew Campbell. Porównując genomy *Hodgkinia* z dwóch gatunków cykad odseparowanych przez około 50 milionów lat ewolucji, *Diceroprocta semicincta* i *Tettigades ulnaria*, wykazali on bardzo wysokie podobieństwo odnośnie zawartości genów i organizacji genomu, pomimo niskiego podobieństwa w sekwencji nukleotydu. W przeciwieństwie do tego, u *Tettigades undata*, gatunku odseparowanego od *T. ulnaria* zaledwie o 4 miliony lat ewolucji, odkryli dwie genetycznie i cytologicznie odmienne linie symbionta *Hodgkinia*, obie o mniejszych genomach i kodujące tylko część zestawu genów obecnych u symbionta *T. ulnaria* (Van Leuven i in. 2014, Cell 158: 1270-80). Doszli oni do wniosku, że u przodka *T. undata* szczep *Hodgkinia* podobny do tego z *T. ulnaria* wyewoluował w kompleks dwóch odrębnych, komplementarnych linii symbiotycznych, dzięki niespotykanemu procesowi łączącemu cechy duplikacji genomu oraz specjacji sympatycznej. Co więcej, odkryli oni że u daleko spokrewnionej periodycznej cykady *Magiccada tredecim*, *Hodgkinia* składa się z co najmniej kilkudziesięciu małych kóelek DNA rozdzielonych pomiędzy wiele typów komórek, co wskazuje na symbiotyczny kompleks niezwykle rozdrobniony i trudny do zrozumienia (Campbell i in. 2015, PNAS 112: 10192-99). **Gdy dołączyłem do zespołu, moim celem badawczym stało się zrozumienie natury i konsekwencji procesu fragmentacji który doprowadził do powstania tych niezwykle kompleksów symbiotycznych.**

Publikacja 1

Postanowiłem kompleksowo zbadać różnorodność symbionta *Hodgkinia* w rodzaju *Tettigades*, endemicznym dla Chile i Argentyny i u którego po raz pierwszy opisano podziały *Hodgkinia*. Dzięki środkom z pozyskanego przeze mnie grantu National Geographic Society, i przy pomocy współpracowników z Chile i Argentyny (prof. Claudio Veloso, University of Chile i Dr. Pablo Pessacq, Centro de Investigaciones Esquel de Montaña i Estepa Patagónicas, Argentyna), kierowałem zbiorem tych cykad przez trzy sezony. Współpracowałem też ściśle z ekspertami w dziedzinie systematyki cykad z grupy prof. Chris Simon (University of Connecticut, Storrs, CT, USA), którzy pomogli mi w sortowaniu i identyfikacji ponad tysiąca zebranych okazów. W dziewiętnastu wybranych populacjach cykad reprezentujących dziewięć gatunków zbadałem różnorodność *Hodgkinii* przy użyciu niestandardowego protokołu sekwencjonowania amplikonu genu kodującego białko symbionta. Następnie zsekwencjonowałem, złożyłem, przeprowadziłem anotację przy użyciu specjalnie w tym celu stworzonych narzędzi i porównałem wszystkie genomy *Hodgkinia* z czterech dodatkowych gatunków *Tettigades* i jednej grupy zewnętrznej. Ponadto wykorzystałem niestandardowy protokół mikroskopii fluorescencyjnej do wizualizacji linii *Hodgkinia* w obrębie niektórych gatunków *Tettigades* i współpracowałem z ekspertką w dziedzinie technik histologicznych i mikroskopii elektronowej, dr Anną Michalik (Uniwersytet Jagielloński, Kraków) nad bardziej szczegółowym opisem biologii tych symbioz.

Łącząc te niezależne metody, **odkryliśmy że w ciągu ostatnich 4 milionów lat, pojedyncza, ancestralna linia *Hodgkinia* podzieliła się na kompleksy złożone z kilku różnych linii występujących w tkankach tego samego gospodarza co najmniej sześciokrotnie, w różnych grupach z rodzaju *Tettigades***. Obecnie istniejące kompleksy składają się z dwóch do sześciu różnych linii *Hodgkinia*. Zaobserwowaliśmy korelację pomiędzy liczbą linii w kompleksie a czasem od pierwszego podziału, co sugeruje, że po pierwszym podziale, kompleksy stają się z czasem coraz bardziej pofragmentowane. Moje analizy ujawniły, że **poszczególne linie w tych wieloliniowych**

kompleksach symbiotycznych różnią się znacznie pod względem abundancji (liczby komórek wchodzących w skład kompleksu), wielkości genomu, oraz organizacji i zawartości genów. Każda linia *Hodgkinia* zachowuje zestaw kilkunastu kluczowych genów uczestniczących w przetwarzaniu informacji genetycznej, ale utrata znacznej części genów przez każdą z linii wskazuje, że linie dzielą się produktami genów. Co więcej, każda linia zachowuje pewne unikalne geny niezbędne do biosyntezy składników odżywczych, które zostały utracone przez wszystkie inne linie w tym samym kompleksie: sugeruje to, że wszystkie linie są wymagane dla kompletności szlaków metabolicznych. Jednym z najbardziej uderzających było odkrycie, że **kolektywnie, linie *Hodgkinia* w każdym kompleksie zawierają niemal kompletne zestawy genów obecnych w pojedynczej, ancestralnej, linii i wydają się wspólnie spełniać te same funkcje, zwłaszcza w odniesieniu do biosyntezy składników odżywczych, co symbionty które nie podzieliły się na kompleksy.** Jednak różnice pomiędzy gatunkami odnośnie czasu który minął od pierwszego podziału, jak również odmienne wzorce utraty genów w poszczególnych genomach, doprowadziły do istotnych różnic pomiędzy istniejącymi obecnie kompleksami.

Projekt ten dostarczył informacji na temat **unikalnych procesów degeneracyjnych charakterystycznych dla symbioz cykad**, pomagając nam zrozumieć, w jaki sposób szczepy bakteryjne których genomy kodują zaledwie około dwudziestu genów mogą funkcjonować, trwać i ewoluować przez miliony lat. **Projekt zapewnił też nową perspektywę na ewolucję innych symbioz, w tym tych najbardziej istotnych z perspektywy życia na Ziemi - dotyczących organelli komórkowych.**

Publikacja 2

Wielokrotna ewolucja kompleksów symbiotycznych w rodzaju *Tettigades*, ale także odkrycie ekstremalnie pofragmentowanych kompleksów w rodzaju *Magiccada* (Campbell et al. 2015, zob. Także P07), doprowadziło nas do oczywistych pytań dotyczących konsekwencji tych procesów dla symbiontów i dla gospodarzy. Argumentowaliśmy, że ewolucja kompleksów ma negatywny wpływ na dostosowanie gospodarzy i wystąpiła raczej w wyniku procesów losowych (mutacje, dryf) niż w wyniku selekcji. Oparliśmy ten wniosek na obserwacji, że podziały nie powodują wytworzenia nowych funkcji. Jednocześnie kompleksy wielu linii zajmują więcej miejsca w tkance gospodarza i pochłaniają więcej zasobów, mogą być trudniejsze w kontroli i utrzymaniu, zaś wydajność biosyntezy jest prawdopodobnie niższa gdy enzymy odpowiedzialne za różne etapy procesów są rozproszone pomiędzy przedziałami komórkowymi. Dodatkowo doszliśmy do wniosku, że jednym z największych wyzwań stojących przed cykadami których symbiont uległ fragmentacji może być transmisja kompletnego symbiotycznego konsorcjum do potomstwa. Wynika to z faktu, że linie *Hodgkinia* które są niezbędne dla funkcji symbiotycznej lecz występują nielicznie mogą zostać utracone podczas przejścia przez „wąskie gardło” transmisji pomiędzy matką a jajem. Postanowiliśmy zbadać, **jak cykady radzą sobie z problemem transmisji symbiontów.**

W celu realizacji tego projektu połączyłem siły z Matthew Campbellem, na zasadzie współ-pierwszego autorstwa. Wykorzystaliśmy próby dorosłych owadów, niezłożonych jaj wyizolowanych z jajników samic, i zgrupowań jaj zebranych w terenie, dla *Diceroptocta semicineta* (jedna linia *Hodgkinia*), *Tettigades* spp. (od jednej do sześciu linii) i *Magiccada* spp. (bardzo pofragmentowana *Hodgkinia*). Scharakteryzowaliśmy względną abundancję linii *Hodgkinia* w populacjach i skupiskach jaj od pojedynczych samic przy użyciu sekwencjonowania amplikonów; policzyliśmy komórki symbiontów zdeponowane w poszczególnych jajach za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej; i wizualizowaliśmy różne etapy przekazywania symbiontu do jaj za pomocą technik histologicznych (ten aspekt projektu prowadziła dr Anna Michalik). Uzupełniliśmy te dane eksperymentalne o wyniki modelowania komputerowego.

Stwierdziliśmy, że **wszystkie jaja cykad otrzymują pełen zestaw linii *Hodgkinia***, a różnice we względnej liczebności linii pomiędzy jajami złożonymi przez pojedyncze samice są mniejsze niż różnice pomiędzy dorosłymi osobnikami w populacji. Wskazało to, że **cykady są w stanie uniknąć dużych zmian we względnej abundancji linii podczas transmisji**, przynajmniej podczas jednego pokolenia. Stwierdziliśmy również, że **cykady których *Hodgkinia* jest bardziej pofragmentowana przekazują więcej komórek tego symbionta do pojedynczych jaj**; różnica może być nawet 6-krotna.

Wykazaliśmy wreszcie, że **gatunki cykad o różnej złożoności *Hodgkinia* nie modyfikują w wyraźny sposób mechanizmu transmisji**, przynajmniej w rozdzielczości struktur biologicznych komórki. Łącznie, dane te sugerują że główną odpowiedzią cykad na zmiany w złożoności endosymbionta jest zwiększenie liczby komórek *Hodgkinia* przekazywanych do każdego jaja. Argumentujemy, że **wymóg zwiększenia ilości przekazywanych komórek *Hodgkinia* jest jednym z istotnych kosztów związanych z fragmentacją tego symbionta.**

Publikacja 3

Zakładając, że kompleksy *Hodgkinia* stają się z czasem coraz bardziej rozdrobnione i coraz bardziej kosztowne dla cykad, wydaje się, że ostatecznym losem linii cykad w których doszło do fragmentacji tego symbionta jest ekstynkcja. Czy tak jest? Tak uważamy, nawet jeśli nasze dane wskazują że proces ten może trwać wiele milionów lat. Jednak dla gospodarza możliwość odejścia od degenerującego, nieefektywnego partnera symbiotycznego pojawia się, gdy zostaje on zastąpiony przez inny mikroorganizm (Bennett i Moran, PNAS 112: 10169-76).

Okazja do **zbadania procesu zastępowania symbionta *Hodgkinia* pojawiła się dzięki możliwości współpracy z grupą japońskich naukowców wśród których główną rolę odgrywał dr Yu Matsuura**, obecnie na Uniwersytecie Ryukyus, Okinawa, Japonia. Zebrali oni i przebadali imponującą liczbę okazów japońskich cykad przy użyciu klasycznych technik molekularnych i kilku rodzajów mikroskopii, ujawniając wiele przypadków zastąpienia *Hodgkinia*. **Poprzez sekwencjonowanie i analizę metagenomów bakteriomów większości zebranych przez nich gatunków zapewniłem ramy filogenetyczne które pozwoliły na systematyczny opis wzorców zastępowania symbiontów wśród japońskich cykad.**

Odkryliśmy, że wszystkie badane gatunki japońskich cykad gościły symbionta *Sulcia*, i genomy scharakteryzowanych szczepów różniły się w niewielkim stopniu. Dziewięć z 24 gatunków zawierało kompleksy *Hodgkinia* o różnym, ale dość wysokim stopniu fragmentacji. U pozostałych piętnastu gatunków *Hodgkinia* była nieobecna. Zamiast tego, stwierdziliśmy że w obrębie bakteriomów i / lub ciała tłuszczowego występowały grzyby z rodzaju *Ophiocordyceps*, znane jako zjadliwe, wyspecjalizowane patogeny owadów. Występowanie grzybów u wszystkich badanych osobników w populacjach cykad, jak również dane mikroskopowe które ujawniły ich przewidywalne rozmieszczenie w tkankach odwłoka cykad i transowarialną transmisję, wskazały, grzyby te są mutualistami. **Dane wskazują że u przodków tych cykad *Hodgkinia* została zastąpiona przez grzyby patogenne, które następnie przekształciły się w mutualistów przekazywanych transowarialnie i dostarczających niezbędnych składników odżywczych.** Szczegółowe analizy filogenetyczne ujawniły wielokrotne, niezależne zastępowanie *Hodgkinii* przez grzyby, jak również grzybów przez inne grzyby. Na drzewie filogenetycznym, symbionty grzybowe były wymieszane z grzybami pasożytniczymi z rodzaju *Ophiocordyceps* wyspecjalizowanymi w atakowaniu cykad, wyraźnie wskazując patogenne pochodzenie symbiontów grzybowych. Co więcej, sekwencjonowanie genomu jednego szczepu symbionta grzybowego który moi współpracownicy byli w stanie hodować w laboratorium, ujawniło jego wszechstronność metaboliczną, w tym zdolność do syntezy prawie wszystkich aminokwasów, witamin i innych metabolitów, co jest więcej niż wystarczające do skompensowania utraty symbionta *Hodgkinia*.

Odkrycia te ukazują, że **zastępowanie mikroorganizmów symbiotycznych przez inne może być powszechną cechą ewolucji symbioz.** Wskazują również, że **pasożyty i patogeny są jednymi z najbardziej prawdopodobnych kandydatów na zamienniki, podkreślając ekologiczne i ewolucyjne związki między pasożytnictwem a symbiozą.** Nasza praca pokazuje również, że **zastępowanie mikroorganizmów symbiotycznych stanowi ewolucyjną okazję do odnowienia degenerującej, długoterminowej relacji symbiotycznej.**

Publikacja 4

Różnorodność przebiegu ewolucji zaobserwowana w systemach symbiotycznych cykad które badałem – wysoka częstość stosunkowo niedawnych podziałów *Hodgkinia* w rodzaju *Tettigades* (P01), skrajnie pofragmentowane kompleksy symbiotyczne w rodzaju *Magicicada* (P02, P07) i częste zastępowanie

bakteryjnego symbionta przez grzyby u cykad japońskich (P03) – skłoniły mnie do zadania pytań o bardziej ogólne prawidła. Opierając się o pozyskaną przeze mnie kolekcję okazów z Ameryki Południowej i Stanów Zjednoczonych, a także dzięki współpracy z Chris Simon która dostarczyła dodatkowe okazy, **rozpocząłem zakrojone na znacznie szerszą skalę badania symbioz w tej rodzinie piewików**. Dla kilkudziesięciu okazów przygotowałem i zsekwencjonowałem biblioteki metagenomiczne bakteriomów, nadzorowałem również i szkoliłem innych naukowców którzy przygotowywali dodatkowe biblioteki. Następnie przeprowadziłem składowanie kilkuset uzyskanych metagenomów, anotacje oraz porównania między genomami różnych organizmów z wielu prób metagenomicznych.

Wstępne wyniki analiz prowadzonych przeze mnie i współpracowników wykazały imponującą stabilność symbionta *Sulcia*, co najmniej trzydzieści niezależnych przypadków rozszczepienia symbionta *Hodgkinia*, co najmniej piętnaście przypadków zastępowania tego symbionta przez grzyby, i wyraźne korelacje pomiędzy tempem ewolucji różnych genomów w bakteriomach cykad. Prace nad tymi danymi są kontynuowane. **Natomiast pierwszy zestaw danych który zdecydowałem się opublikować obejmuje zbiór i systematyczne porównanie ponad stu genomów mitochondrialnych cykad reprezentujących 61 gatunków**. Poza zapewnieniem ram filogenetycznych dla innych porównań genomicznych, dane te umożliwiły nam sprawdzenie czy procesy degeneracyjne podobne do występujących u *Hodgkinia* wystąpiły w genomach mitochondrialnych cykad i porównanie tempa ewolucji pomiędzy gałęziami drzewa filogenetycznego gospodarzy.

Wykazaliśmy, że **wszystkie mitogenomy cykad zachowują organizację i zbiór genów uważanych za pierwotne u owadów**, z pewną zmiennością pomiędzy gatunkami i rodzajami odnośnie wielkości regionów międzygenowych. Analizy filogenetyczne oparte na sekwencjach wszystkich genów mitochondrialnych uzupełniły wyniki innych projektów mających na celu rekonstrukcję filogenezy cykad, ale pozwoliły też na identyfikację gatunku który reprezentuje nową, nieznaną dotąd podrodzinę. Pokazaliśmy również, że podczas gdy geny kodujące białka mitochondrialne podlegają silnej selekcji stabilizującej, **porównania tempa ewolucji pomiędzy taksonami ujawniły znaczące różnice, podkreślając dynamiczny charakter ewolucji genomu mitochondrialnego w tej grupie**. Dane te, **prócz ukierunkowania naszych badań dotyczących kompleksowego opisu wzorów ewolucyjnych symbioz cykad, posłużą jako cenny zasób dla przyszłych badań nad systematyką, ekologią i ewolucją nadrodziny Cicadoidea**.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

Liczby w nawiasach (P05, P06...) odnoszą się do moich publikacji wymienionych w punktach I-B, II-A i II-D Załącznika 3. Publikacje P19-P24 są efektem badań realizowanych przeze mnie w trakcie studiów magisterskich. Publikacje P11 i P15-18 są efektem badań realizowanych przeze mnie w trakcie studiów doktoranckich i weszły w skład rozprawy doktorskiej, choć wszystkie prócz ostatniej zostały opublikowane już po ukończeniu studiów. Publikacje składające się na osiągnięcie habilitacyjne (P01-P04) i pozostałe (P05-P10 i P12-P14) są wynikiem badań prowadzonych przeze mnie po uzyskaniu stopnia doktora.

a. Badania prowadzone w okresie studiów magisterskich na Uniwersytecie Jagiellońskim (2001-2006)

W roku 2001, jako absolwent V Liceum Ogólnokształcącego w Krakowie i laureat etapów centralnego XV Olimpiady Wiedzy Ekologicznej dla szkół średnich (2000) i XXX Olimpiady Biologicznej dla szkół średnich (2001), rozpocząłem Studia Matematyczno-Przyrodnicze na Uniwersytecie Jagiellońskim. Jako kierunek wiodący wybrałem biologię. Od pierwszego miesiąca studiów aktywnie włączyłem się w badania naukowe w szeroko pojętej dziedzinie ekologii ewolucyjnej bezkręgowców.

Na pierwszym roku studiów, w Zakładzie Malakologii Instytutu Zoologii UJ, pod opieką prof. Andrzeja Falniowskiego realizowałem projekt **dotyczący rozmieszczenia polimorfizmu organów rozrodczych w małopolskich populacjach naskalnych ślimaków *Chondrina clienta* (P24)**.

Na drugim roku studiów dołączyłem do Zakładu Ekotoksykologii w Instytucie Nauk o Środowisku UJ, kierowanego przez prof. Ryszarda Laskowskiego. Moja praca eksperymentalna **koncentrowała się na ocenie wpływu wielkości populacji na zdolność adaptacji chrząszczy *Tribolium confusum* do skażenia środowiska metalami**. Uzyskane wyniki wykorzystałem do przygotowania pracy magisterskiej w języku angielskim, zatytułowanej „Benefits and costs of adaptation to elevated copper levels in the flour beetle, *Tribolium confusum*” („*Korzyści i koszty adaptacji do podwyższonych stężeń miedzi u chrząszcza mącznego, Tribolium confusum*”). Część wyników, ukazujących koszty adaptacji (podwyższoną respirację) nawet w nieskażonym środowisku, zostały opublikowane (P20).

Od trzeciego roku studiów zacząłem realizować badania w Zakładzie Ekologii Behawioralnej w INoŚ, pod opieką prof. Jacka Radwana. Koncentrowałem się na **analizie wpływu czynników genetycznych (P23) i środowiskowych na dostosowanie alternatywnych fenotypów samców roztoczy (*Rhizoglyphus robini* i *Sancassania berlessei*)**. Jako rozszerzenie tego projektu, dzięki grantowi The Gibson-Sykora Foundation, spędziłem cztery miesiące na University of St. Andrews w Szkocji. Pod opieką Dr. Josepha Tomkinsa testowałem eksperymentalnie szereg hipotez dotyczących wpływu czynników środowiskowych, takich jak stopień złożoności przestrzennej siedliska (P22) lub zagęszczenie populacji, na dostosowanie samców. Już po zakończeniu studiów magisterskich, w oparciu o obserwacje zdobyte podczas tego stażu, samodzielnie zaplanowałem i przeprowadziłem serię eksperymentów które wykazały alternatywną funkcję zgrubiałych odnóży jednej z form samców, uważanych za wynik doboru płciowego. Umożliwiają one tym samcom zabijanie innych osobników tego samego i innych gatunków i ich konsumpcję, co może stanowić cenne źródło składników odżywczych w trudnych warunkach środowiskowych (P19).

Na czwartym roku studiów uczestniczyłem w miesięcznym kursie biologii tropikalnej prowadzonym przez Tropical Biology Association na Madagaskarze (listopad 2004). Intensywny dziesięciodniowy projekt badawczy zaplanowany i przeprowadzony wraz z afrykańskim studentem zaowocował publikacją opisującą **przebieg sukcesji owadów w owocach baobabu (P21)**.

Dzięki stypendium Socrates-Erasmus, większość czwartego roku studiów (styczeń-wrzesień 2005) spędziłem na Wageningen University w Wageningen, Holandia, pracując pod opieką Agnieszki Doroszuk w zespole prof. Jana Kammengi (Department of Nematology). Uczestniczyłem w projekcie badawczym dotyczącym **determinacji najważniejszych genów odpowiadających za dostosowanie u nicienia *Caenorhabditis elegans***.

Na piątym roku studiów (2005-2006), dzięki stypendium Smithsonian Tropical Research Institute, spędziłem sześć miesięcy w Panamie, realizując projekt badawczy dotyczący **porównania presji owadów roślinożernych w różnych typach lasu**.

Łącznie, moja działalność naukowa w okresie studiów lub wkrótce po ich ukończeniu zaowocowała sześcioma publikacjami w recenzowanych zagranicznych czasopiśmiech jako pierwszy lub jedyny autor, jak również kilkoma wystąpieniami konferencyjnymi. Moja aktywność naukowa w połączeniu z wynikami w nauce zaowocowały kilkoma stypendiami i nagrodami, w tym stypendiami Ministra Edukacji Narodowej i Sportu za osiągnięcia w nauce (2004/2005 i 2005/2006).

Studia ukończyłem z wynikiem bardzo dobrym w dniu 06.10.2006, uzyskując tytuł magistra biologii.

b. Ekologia symbioz fakultatywnych mszyc: badania prowadzone w trakcie studiów doktoranckich na University of Oxford (2008-2011) i pierwszego stażu podoktorskiego na Drexel University (2011-2014)

Jako **doktorant na Department of Zoology, University of Oxford** w Wielkiej Brytanii (2008-2011), pod nadzorem prof. Charlesa Godfraya i dr Julii Ferrari, **badalem różnorodność, ekologię i funkcje fakultatywnych bakterii endosymbiotycznych mszyc**, z naciskiem na ich potencjał jako wektory istotnych ekologicznie cech pomiędzy różnymi gospodarzami.

Fakultatywne endosymbionty to bakterie które żyją w komórkach i tkankach owadów-gospodarzy. Podobnie jak endosymbionty obligatoryjne (np. *Hodgkinia*), są transportowane głównie przez matki na potomstwo, poprzez układ rozrodczy. Symbionty fakultatywne nie są niezbędne gospodarzom, ale mogą znacząco wpływać na wiele aspektów ich biologii, na przykład poprzez manipulowanie reprodukcją,

zapewnianie ochrony przed naturalnymi wrogami (patogenami, pasożytami, drapieżnikami), przed stresogennymi czynnikami środowiskowymi takimi jak szok cieplny, lub poprzez umożliwienie spożywania pewnych pokarmów (na przykład, żerowania na różnych gatunkach roślin). Natomiast symbionty fakultatywne mogą się też niekiedy przenosić pomiędzy liniami w obrębie gatunków i pomiędzy gatunkami; po zasiedleniu nowych gospodarzy mogą im nadawać nowe, istotne ekologicznie i ewolucyjnie cechy (Oliver et al. 2010, *Annu Rev Entomol* 55:247-66). Niestety, różnorodność endosymbiontów fakultatywnych, ich rozmieszczenie w obrębie i pomiędzy gatunkami, zakres transmisji międzygatunkowej i efekty na dostosowanie gospodarzy są słabo poznane. Badania prowadzone nad tymi symbiozami przeze mnie i współpracowników pomogły wypełnić część luk w naszej wiedzy.

Mszyce, a zwłaszcza mszyca grochowa *Acyrtosiphon pisum*, są systemem modelowym do badania symbioz fakultatywnych. Wynika to z dużej różnorodności i rozpowszechnienia endosymbiontów fakultatywnych u tej grupy, jak również łatwości ich hodowli, krótkiego cyklu życiowego, i nietypowego sposobu rozmnażania: cyklicznej partenogenezy. W związku z nim, w laboratoryjnych warunkach przypominających letnie, genetycznie identyczne, partenogenetyczne linie mszyc mogą być utrzymywane niemal w nieskończoność. Podczas moich studiów doktoranckich wykorzystałem ten aspekt biologii mszyc: manipulując infekcjami symbiontów w klonach mszyc, wytworzyłem dużą kolekcję genetycznie identycznych linii gospodarzy które różniły się obecnością / genotypem symbionta. Praca z tą kolekcją umożliwiła mi oddzielenie efektu tła genetycznego gospodarza podczas eksperymentalnej oceny skutków infekcji.

Początkowo skoncentrowałem się **na opisie różnorodności symbiontów i ich efektów na cechy historii życiowych u mszycy zbożowej, *Sitobion avenae***, szeroko rozpowszechnionego szkodnika zbóż. Prace rozpocząłem od zebrania prób z lokalnej populacji mszyc i ustanowienia długoterminowych hodowli laboratoryjnych pięćdziesięciu linii mszyc, jak również ich pasożytów. Następnie opracowałem i wdrożyłem protokoły molekularne do genotypowania mikrosatelitarnego owadów oraz badania przesiewowego i typowania sekwencji ich symbiontów. Opracowałem również metody skutecznego manipulowania infekcją w liniach mszyc poprzez leczenie antybiotykami i mikroiniekcje. Ustaliłem też protokoły do testowania efektów infekcji na cechy historii życiowych mszyc: płodność, podatność na dwa gatunki pasożytniczych os, na infekcje przez grzyby patogenne, oraz na zamrażanie. Korzystając z tych technik, wykazałem wysoką częstość występowania i różnorodność dwóch gatunków symbiontów fakultatywnych, *Hamiltonella* i *Regiella*, w badanej populacji *S. avenae*. Zaobserwowałem istotną interakcję między genotypem gospodarza a genotypem symbionta podczas oceny wpływu infekcji przez *Hamiltonella* na płodność mszyc. Natomiast w przeciwieństwie do innych badanych gatunków mszyc (Oliver et al. 2003, *PNAS* 100:1803-7), nie zaobserwowałem bezpośredniego działania ochronnego *Hamiltonella* przeciwko dwóm gatunkom pasożytów, ponownie sugerując istotną interakcję genotyp x genotyp (P17). Podczas niezależnego, niewielkiego eksperymentu, przeprowadzonego przez studentkę realizującą pod moją opieką pracę licencjacką, wykazałem ograniczony wpływ symbiontów na mrozoodporność mszyc w stosunku do różnic między genotypami gospodarzy (P18).

Zważywszy na te negatywne wyniki, postanowiłem **zbadać efekty szczepów symbiontów pochodzących z innych gatunków mszyc po eksperymentalnej infekcji mszyc zbożowych**. Umożliwiło mi to systematyczną ocenę wpływu dystansu genetycznego pomiędzy gospodarzami na łatwość infekcji przez nowo wprowadzony szczep *Hamiltonella*. Stosując dwie linie mszyc zbożowych, odkryłem, że symbionty łatwiej zasiedlają mszyce po przeniesieniu z tego samego gatunku gospodarza, jak również że takie infekcje są bardziej stabilne. Wyniki te sugerują, że istnieją bariery fizjologiczne mające znaczenie podczas transmisji symbiontów. Nie zaobserwowałem natomiast różnic pomiędzy szczepami symbiontów które utworzyły stabilne infekcje w ich efektach na płodność mszyc. Dodatkowo, żaden z nowo wprowadzonych szczepów *Hamiltonella* nie zapewnił ochrony przed pasożytami (P11).

Podczas kolejnego eksperymentu **zbałem na ile rozpowszechniona wśród szczepów symbiontów jest zdolność ochrony gospodarza przed grzybami patogennymi**. Po wprowadzeniu do jednego klonu (mszyca grochowej) kilkunastu szczepów symbiontów reprezentujących sześć gatunków, przetestowałem uzyskane linie pod kątem podatności na pojedynczy izolat grzyba patogennego. W ten

sposób odkryłem, że skuteczną ochronę zapewniają szczepy czterech niespokrewnionych gatunków symbiontów: *Regiella*, która już wcześniej była znana jako symbiont chroniący przed patogenami (Scarborough et al. 2005, Science 310:1781), ale także *Rickettsiella*, *Rickettsia* i *Spiroplasma* (P16). Wyniki te wskazały, że zapewnianie ochrony przed wrogami naturalnymi może być popularnym sposobem na zwiększenie częstości występowania symbionta w populacji gospodarzy.

Pod koniec studiów postanowiłem przetestować, **w jaki sposób ochrona zapewniana przez dwa szczepy symbiontów (*Rickettsia* i *Spiroplasma*) przed izolatem grzyba patogennego różni się między genotypami gospodarzy, i jak wpłynie na nią współzakażenie przez dodatkowego symbionta (*Hamiltonella*)**. Eksperymentalnie wprowadziłem dwie naturalnie występujące pary szczepów symbiontów do pięciu klonów dwóch gatunków mszyc, tak aby jeden lub oba symbionty z pary utworzyły długoterminowe infekcje w linii gospodarza. Eksperymenty prowadzone z użyciem utworzonych linii wykazały, że stopień ochrony przed patogenem zapewniany przez danego symbionta różni się pomiędzy genotypami gospodarza, natomiast współzakażenie przez dodatkowego symbionta ma ograniczone skutki. Jednocześnie, koinfekcje przez dodatkowe symbionty mogą znacząco wpłynąć na całkowite koszty zakażenia, ale występują znaczące różnice pomiędzy szczepami symbiontów i genotypami gospodarzy (P15).

Podczas **mojego pierwszego stażu podoktorskiego na Drexel University w Filadelfii, PA, USA, w laboratorium dr Jacoba Russella**, koncentrowałem się na badaniu innego systemu symbiotycznego (patrz sekcja 5c). Jednak dołożyłem się również do prowadzonych na dużą skalę badań częstości występowania symbiontów fakultatywnych w naturalnych populacjach mszyc grochowych, które były regularnie próbkowane przez kilka lat. Ten projekt, kierowany przez doktoranta Andrew Smitha, wykazał drastyczne i gwałtowne zmiany w rozpowszechnieniu symbiontów w populacjach, korelujące do pewnego stopnia z presjami selektywnymi (zagęszczenie parazytoidów, temperatura) na tych stanowiskach (P12, P14). Te wyniki wyraźnie wykazały dynamikę symbioz fakultatywnych, ukazując też że zmiany w częstości występowania symbiontów w populacjach naturalnych są przynajmniej w pewnym stopniu spowodowane ich wpływem na biologię gospodarzy. Mój udział w tych badaniach był przede wszystkim doradczy: uczestniczyłem w projektowaniu, opracowywaniu, wdrażaniu i weryfikacji metod, dyskusji wyników, przygotowaniu artykułów, ale też sprawowałem nieformalny nadzór nad doktorantem i studentami prowadzącymi większość prac terenowych i laboratoryjnych.

Podsumowując, moje badania nad symbiozami mszyc dostarczyły szeregu nowych, cennych informacji odnośnie tego, w jaki sposób zróżnicowana społeczność wielu typów bakterii symbiotycznych, często o nakładających się efektach na biologię gospodarza, może przetrwać w populacjach i zbiorowiskach owadów. Szerokie znaczenie naszych wyników potwierdzają ilości cytacji. Od 27 kwietnia 2019 roku, pięć moich publikacji jako pierwszy autor, wynikających z badań w trakcie doktoratu, było cytowanych łącznie 221 razy według Web of Science lub 359 razy według Google Scholar. Dwie publikacje w których byłem środkowym autorem i do których przyczyniłam się jako postdoc były łącznie cytowane 139 razy według Web of Science i 181 razy według Google Scholar.

c. Różnorodność i funkcje symbioz mrówek: badania prowadzone w trakcie pierwszego stażu podoktorskiego na Drexel University (2011-2014) i krótkoterminowego drugiego stażu w AIST w Japonii (2013)

Podczas **mojego stażu podoktorskiego na Uniwersytecie Drexel w laboratorium dr Jacoba Russella**, moim głównym celem badawczym było scharakteryzowanie różnorodności i wzorców rozmieszczenia bakterii związanych z mrówkami oraz opis ról bakterii w ewolucji mrówek. Wcześniejsze badania mojego opiekuna naukowego sugerowały istotne korelacje między poziomem troficznym mrówek a występowaniem pewnych bakterii w ich przewodzie pokarmowym (Russell i in. 2009, PNAS 106: 21236-41). Moim zadaniem był systematyczny opis tych wzorców.

Zacząłem pracować nad dużą kolekcją mrówek z całego świata, zebranych przez współpracującą z nami dr Corrie Moreau (Field Museum w Chicago, IL, USA). Zaimplementowałem protokoły ekstrakcji DNA i analiz molekularnych, w tym sekwencjonowanie genów markerowych mrówek, eseje diagnostyczne dla wybranych symbiontów i profilowanie T-RFLP. Na późniejszym etapie realizacji projektu przeszliśmy do badań amplikonu genów markerowych bakterii metodami sekwencjonowania nowej

generacji. Z zespołem studentów, na Uniwersytecie Drexel przetworzyliśmy ponad dwa tysiące okazów mrówek z Florydy, Arizony, Australii i Peru. Jednak ten główny kierunek badań został spowolniony przez nieoczekiwane problemy.

Opis tych problemów stał się jednym z naszych bardziej znaczących wyników. Projektem kierował Jon Sanders, doktorant na Uniwersytecie Harvarda (Cambridge, MA, USA). Połączyliśmy w nim wyniki analiz mikroskopowych przeprowadzonych przeze mnie podczas dwumiesięcznego stażu badawczego w National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST) w Tsukubie w Japonii, jak również dane qPCR i sekwencjonowania amplikonu. **Wykazaliśmy, że gatunki i rodzaje mrówek różnią się o kilka rzędów wielkości w liczbie komórek bakteryjnych w przeliczeniu na jednostkę masy ciała (P09).** Podczas gdy niektóre mrówki mają przewody pokarmowe wypełnione bakteriami, a inne są gospodarzami znacznych ilości endosymbiontów, wiele grup mrówek zawiera mało komórek bakteryjnych, często nie więcej niż próby negatywne przerabiane w tym samym czasie. Analizy okazów zawierających niewiele bakterii są szczególnie podatne na artefakty metodologiczne, w szczególności zanieczyszczenie bakteryjnym DNA z odczynników do ekstrakcji DNA i do reakcji PCR (Salter et al. 2014, BMC Biology 12:1-12) i zanieczyszczenie krzyżowe pomiędzy próbkami. Nawet przy zastosowaniu prób negatywnych, charakterystyka składu mikrobiomu w takich próbach o niskiej liczebności mikroorganizmów jest problematyczna (P09, P10). Opracowywałem protokoły bioinformatyczne do wykrywania i filtrowania zanieczyszczeń z prób (P08), **natomiast zdecydowałem się skoncentrować moje badania na opisie mikrobiomów w tych grupach mrówek które zawierały znaczne ilości bakterii.** Badając te grupy, moi współpracownicy i ja wykazaliśmy znaczące różnice w biologii i historii ewolucyjnej bakterii infekujących różnych gospodarzy.

Najwięcej uwagi poświęciłem opisowi mikrobiomów mrówek legionistek (**Formicidae: Dorylinae**), jednej z najbardziej dominującej ekologicznie grup organizmów w lasach neotropikalnych (P08). Poprzez badanie setek próbek przy użyciu diagnostycznych testów PCR, sekwencjonowanie amplikonu metodami nowej generacji, sekwencjonowanie genów kodujących białka symbionta i analizy mikroskopowe pokazałem, że mikrobiomy tych mrówek składają się tylko z kilku gatunków bakterii. Dwie najczęściej występujące i najbardziej dominujące bakterie jelitowe to wyspecjalizowane symbionty, przenoszące się pomiędzy robotnicami w koloniach tych mrówek od co najmniej stu milionów lat, lecz niekiedy przenszące się pomiędzy gatunkami gospodarzy. Wzorce rozmieszczenia szczepów symbiontów pomiędzy robotnicami, koloniami i gatunkami odbiegają od tych opisanych u innych owadów społecznych, dostarczając nowych informacji na temat wpływu biologii gospodarza na różnorodność różnorodność i rozmieszczenie mikrobiomów.

Kolejny system symbiotyczny nad którym pracowałem dotyczył **mikrobiomu roślinożernych mrówek z neotropikalnego rodzaju *Cephalotes* (P13, P06).** Wraz z Yi Hu, doktorantką w laboratorium która kierowała tą linią badań, i z Jonem Sandersem, połączyliśmy analizy mikrobiomów metodami nowej generacji, eksperymenty laboratoryjne z wykorzystaniem hodowanych kolonii, i porównawcze analizy metagenomiczne. Wykazaliśmy, że te nadrzewne mrówki są gospodarzami stabilnych zbiorowisk bakterii, na które składa się kilkadziesiąt szczepów z około dwudziestu rzędów. Większość tych bakterii ko-dywersyfikowała z gospodarzami przez dziesiątki milionów lat. Poprzez zastosowanie metod metagenomiki porównawczej, szczegółowo opisaliśmy proces suplementacji odżywczej tych mrówek przez mikroflorę jelitową, w szczególności recykling odpadów azotowych i produkcję niezbędnych aminokwasów i witamin. Różne etapy procesów biosyntezy są rozdzielone pomiędzy członków społeczności drobnoustrojów, co wydaje się być jednym z powodów dla których te zbiorowiska mikroorganizmów są tak stabilne. Stwierdziliśmy, **że składniki odżywcze zapewniane przez mikroorganizmy jelitowe umożliwiły przodkom mrówek z rodzaju *Cephalotes* specjalizację na pokarmie roślinnym nie zrównoważonym pod względem składników odżywczych i przejście do nadrzewnego stylu życia.** Dla tej grupy było to znaczące osiągnięcie ewolucyjne.

Jednocześnie wykazaliśmy, że w innej grupie mrówek wyspecjalizowanych na pokarmie roślinnym, do której należą gatunki z rodzaju *Dolichoderus* z peruwiańskiej Amazonii, mikroflora funkcjonuje odmiennie. U tych mrówek odpady azotowe są przetwarzane, a niezbędne składniki odżywcze wytwarzane przez bakterie z rodziny Bartonellaceae, które kolonizują krypty w obrębie ściany jelita środkowego i wydają się być w trakcie przechodzenia w kierunku obligatoryjnej endosymbiozy. Jon Sanders i ja współpracowaliśmy przy opisaniu symbioz przy użyciu reakcji diagnostycznych,

sekwencjonowania amplikonów, mikroskopii i metagenomiki. Natomiast systematyczne badania porównawcze genomów symbiontów przeprowadzone zostały w laboratorium prof. Siv Andersson (Uniwersytet w Uppsali, Szwecja). **Porównanie genomów Bartonellaceae infekujących mrówki znajdujące się na różnych poziomach troficznych podkreśliło ważną rolę diety gospodarza dla ewolucji mikroflory jelitowej - i jednocześnie, znaczenie mikrobiomu dla odżywiania gospodarzy (P05).**

W dalszym ciągu wraz ze współpracownikami kontynuujemy pracę nad analizą danych w których uzyskaniu uczestniczyłem, w tym opisanego wcześniej zestawu danych dla mrówek z kilku kontynentów który został uzupełniony o duże ilości dodatkowych danych. Trwające analizy dostarczają nowych informacji na temat specjalizacji bakterii, transmisji szczepów pomiędzy różnymi gatunkami gospodarzy, oraz właściwości genomów które określają właściwości biologiczne symbiontów. Mimo to, chociaż znaczenie mikrobiomów w ewolucji odżywiania mrówek jest oczywiste, to ewolucyjne wzorce są bardziej złożone niż pierwotnie zakładaliśmy.

Jak dotąd, moje badania nad symbiozami mrówek zaowocowały sześcioma publikacjami, w tym jedną jako pierwszy autor. Łącznie, były one cytowane 71 razy według Web of Science lub 118 razy według Google Scholar.

d. Ewolucja wyspecjalizowanych symbioz cykad: badania prowadzone w trakcie trzeciego stażu podoktorskiego na Uniwersytecie w Montanie (2014-2018)

Główne zadania badawcze realizowane przeze mnie podczas stażu podoktorskiego na University of Montana przedstawiłem jako moje osiągnięcie habilitacyjne (sekcja 1). Jednak podczas tego stażu byłem zaangażowany w szereg innych projektów.

Skupiając się na ewolucji symbiontów w rodzaju *Tettigades*, a później na opisie różnorodności symbioz w całej nadrodzinie, **przyczyniłem się też do analiz porównawczych bardzo pofragmentowanych kompleksów *Hodgkinia*** u długowiecznych, periodycznych północnoamerykańskich cykad z rodzaju *Magicicada* (P07). Ten projekt, kierowany przez Matthew Campbella, wykazał dużą rolę czynników losowych w ewolucji najbardziej pofragmentowanych symbioz. Projekt wskazał jednocześnie, że nawet symbiozy z udziałem tak mocno zdegradowanych symbiontów mogą trwać i ewoluować przez miliony lat.

Trzy sezony kierowanego przeze mnie zbioru chilijskich cykad zaowocowały dobrze opisaną kolekcją **ponad tysiąca okazów reprezentujących dwa rodzaje: *Tettigades* i *Chilecicada*. Oprócz dostarczenia informacji odnośnie ewolucji symbioz, są one wykorzystywane do analiz taksonomicznych.** *Chilecicada* została dopiero niedawno opisana jako odrębny rodzaj, z jednym gatunkiem (Sanborn 2014, Proc Entomol Soc Washington 116: 339-48) – ale na podstawie danych morfologicznych, sekwencjonowania i analizy dźwięków wydawanych przez samce, nasza kolekcja obejmuje wiele gatunków. W oparciu o zebrany materiał, dr Jeffrey Cole (Pasadena City College, Pasadena, CA, USA) i zespół prof. Chris Simon prowadzą rewizję rodzaju *Chilecicada*. Podobnie, zgodnie z moimi analizami filogenomicznymi przeprowadzonymi na danych dla ponad dwustu okazów, do rodzaju *Tettigades* należy kilka nieopisanych gatunków, ale również w obrębie uznanych gatunków występuje znaczący stopień zróżnicowania. Częściowa rewizja taksonomiczna rodzaju została przeprowadzona przez magistrantkę z zespołu Chris Simon, Katherine Nazario, która ściśle ze mną współpracowała w terenie i w laboratorium. Te analizy taksonomiczne trwają. Wierzymy że dzięki szeroko zakrojonym badaniom filogenomicznym istniejącej kolekcji okazów będziemy w stanie w pełni zrekonstruować ewolucyjną historię rodzaju *Tettigades* i zrozumieć, w jaki sposób biologia gospodarza i procesy populacyjne wpłynęły na ewolucję ich symbiontów.

Podczas zbiorów w argentyńskiej Patagonii zebraliśmy okazy z wielu populacji niewielkich cykad, które później zidentyfikowano jako *Derotettix mendosensis*, gatunek ze słabo scharakteryzowanego i najwyraźniej polifiletycznego plemienia Parnisini. Co ciekawe, analizy filogenomiczne danych uzyskanych pod moim nadzorem na Uniwersytecie w Montanie wykazały, że gatunek ten reprezentuje grupę zewnętrzną dla wszystkich scharakteryzowanych dotąd przy użyciu metod molekularnych gatunków z rodziny cykad (Cicadidae). Moi współpracownicy i ja przeprowadziliśmy dodatkowe zbiory i analizy oparte o kilka typów danych molekularnych i morfologicznych. **Jestem ostatnim autorem**

pracy na końcowych etapach przygotowań która proponuje utworzenie nowej podrodziny cykad i omawia ewolucję Cicadidae w oparciu o te nowe dane.

Prowadząc zbiory zauważyłem również, że niektóre cykady zebrane w Chile i Arizonie były zainfekowane przez grzyb patogenny podobny do *Massospora cicadina*, który powoduje odpadania końcówek odwłoków cykad, umożliwiając infekcję innych osobników cykad przez wydostające się zarodniki. Nawiązałem w sprawie zebranych okazów kontakt z dr Matthew Kassonem, profesorem na West Virginia University w Morgantown, WV, USA, którego zespół bada różnorodność wytwarzanych przez *Massospora* metabolitów, w tym potencjalnie psychoaktywnych związków z grupy amfetamin i psilocybin (Boyce et al. 2018, bioRxiv, doi: 10.1101/375105). Prowadzone w jego laboratorium analizy filogenetyczne tych dodatkowych prób wykazały, że ten sam uderzający fenotyp mógł wyewoluować niezależnie w dwóch rodzinach grzybów Entomophthorales.

Brałem również udział w badaniu symbioz u pluskwiaków innych niż cykady. W szczególności, jestem współ-kierownikiem i wykonawcą w projekcie Narodowego Centrum Nauki (NCN) Sonata 13 „Ewolucja systemów symbiotycznych Fulgoromorpha” nr 2017/26/D/NZ8/00799, kierowanym przez dr Annę Michalik. W ramach tej współpracy przez cztery tygodnie gościłem dr Michalik na Uniwersytecie w Montanie (sierpień 2018), wspólnie przygotowując i sekwencjonując biblioteki metagenomiczne dla dwudziestu gatunków Fulgoromorpha i częściowo analizując uzyskane dane. Współpracowaliśmy również przy analizie genomu bakterii (*Arsenophonus*), która żyje w cytoplazmie komórek endosymbionta *Sulcia* w bakteriomie skoczka *Macrosteles laevis* (Kobiałka et al. 2016, *Protoclasma* 253: 903-12). Spodziewam się, że po moim powrocie do Krakowa współpraca z dr Michalik, ekspertką w dziedzinie mikroskopowych analiz symbioz która jest również współ-kierownikiem mojego niedawno pozyskanego grantu NCN Sonata Bis 8 (patrz sekcja 5f poniżej) będzie się dalej rozwijać.

e. Dynamika zbiorowisk owadów i ich mikroorganizmów: rola w projekcie (Swedish Museum of Natural History, 01.10.2018 – 06.30.2019)

Od października 2018 r. **jako naukowiec w Szwedzkim Muzeum Historii Naturalnej w Sztokholmie, jestem zatrudniony w projekcie Insect Biome Atlas** (www.insectbiomeatlas.com). Ten pięcioletni projekt, finansowany przez duży grant (31 mln SEK ~ 12 mln zł) od Fundacji Knuta i Alice Wallenbergów pt. „Comparative Insect Biomics”, jest **jednym z największych realizowanych obecnie projektów poświęconych ocenie bioróżnorodności owadów**. Korzystając z pułapek typu Malaise, międzynarodowy zespół prowadzi zbiór owadów latających na 250 stanowiskach w Szwecji i na Madagaskarze co tydzień przez rok, choć na części stanowisk zbiory zaplanowane są na wiele lat. Skład zbiorowisk owadów w uzyskanych w ten sposób tysiącach wielogatunkowych prób będzie określony przy użyciu wysokoprzepustowych technik sekwencjonowania nowej generacji. Dane dotyczące składu gatunkowego prób i rozmieszczenia gatunków w czasie i przestrzeni, jak również wyniki długoterminowych pomiarów czynników abiotycznych i biotycznych na każdym ze stanowisk, będą wykorzystane jako dane wejściowe do przygotowania zaawansowanych modeli. To wielopłaszczyznowe podejście zapewni bezprecedensową ilość informacji na temat czynników kształtujących rozmieszczenie gatunków i skład zbiorowisk owadów.

Jestem zatrudniony w projekcie jako pełnoetatowy naukowiec i współ-kierownik projektu (co-PI). **Moim głównym zadaniem było opracowanie i optymalizacja protokołów** do niedestruktywnej ekstrakcji DNA na dużą skalę, przygotowania bibliotek do sekwencjonowania, i bioinformatycznej rekonstrukcji składu społeczności owadów na podstawie uzyskanych w ten sposób danych. Te prace są w toku. W związku z moim przedterminowym (30.06.2019) przerwaniem kontraktu w Sztokholmie i przeprowadzką do Krakowa, moje obowiązki związane z optymalizacją metod przejmie inny naukowiec, który będzie dzielić czas pomiędzy Szwecję a Polskę.

Moim innym zadaniem związanym z realizacją projektu było opracowanie metod charakteryzacji mikrobiomu w ogromnej kolekcji owadów zebranych przez projekt, w miarę możliwości w ramach nowej grupy badawczej. Zapropnowałem i uzgodniłem schematy pobierania materiału i protokoły postępowania z próbami, dzięki czemu znaczna część zebranych okazów będzie dostępna jako wysokiej klasy materiał do indywidualnego przetwarzania, w tym wysokoprzepustowej charakteryzacji

mikrobiomu. Jak opisałem w kolejnej sekcji (5f), udało mi się uzyskać znaczne fundusze na badania które pozwolą na wykorzystanie bezprecedensowych zasobów zapewnionych przez Insect Biome Atlas jako źródła materiału do opisu ekologicznej i ewolucyjnej dynamiki mikrobiomów owadów.

f. Dynamika ekologiczna i ewolucyjna symbioz owadów: zarys badań planowanych w oparciu o pozyskane granty (Uniwersytet Jagielloński, od 01.07.2019)

W dniu 01.07.2019 rozpoczynam zatrudnienie jako adiunkt badawczy i kierownik nowo utworzonego zespołu badawczego Ewolucji Symbioz (www.symbioses.pl) w Instytucie Nauk o Środowisku, na Wydziale Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Zespół powstaje w oparciu o środki pozyskane z dwóch grantów których jestem samodzielnym kierownikiem: NAWA Polskie Powroty „*Insect Microbiomics*” nr. PPN/PPO/2018/1/00015; oraz NCN Sonata Bis 8 „Dynamika ewolucyjna symbiontów piewików”, nr. 2018/30/E/NZ8/00880. Środki te umożliwią poprowadzenie zespołu liczącego do siedmiu pracowników (licząc postdoków, pracowników technicznych i doktorantów) przez okres pięciu lat.

Zespół będzie realizować dwa szeroko zakrojone projekty badawcze.

Celem pierwszego projektu, finansowanego przez grant NCN Sonata Bis, będzie zrozumienie natury, częstości występowania i konsekwencji zastępowania endosymbiontów owadów z grupy Auchenorrhyncha (piewiki) przez inne mikroorganizmy, pochodzenia, funkcji i wzorców ewolucji genomu zastępujących mikroorganizmów, a także konsekwencji tego zastępowania dla owadów-gospodarzy. Projekt ten jest rozwinięciem prac prowadzonych podczas mojego stażu podoktorskiego na University of Montana, stanowiących osiągnięcie habilitacyjne. Istniejące dane mikroskopowe i stosunkowo ograniczona ilość danych molekularnych dla piewików innych niż cykady (Cicadoidea są jedną z czterech nadrodzin w grupie Auchenorrhyncha) wskazują że niemal wszystkie z nich są gospodarzami wyspecjalizowanych, dziedziczonych mikroorganizmów symbiotycznych. Natomiast wydaje się, że symbiozy cykad są stosunkowo mało różnorodne w porównaniu do innych piewików: wszystkie zbadane dotąd przez nas gatunki są gospodarzami bakterii *Sulcia*, której towarzyszy albo *Hodgkinia*, albo grzyb z rodzaju *Ophiocordyceps*. **Zamierzamy zbadać i opisać różnorodność i ewolucję symbioz innych piewików**, które skłoniły Paula Buchnera, ojca systematycznych badań symbioz, do określenia tej grupy jako „*veritable fairylan*d of insect symbiosis”, „prawdziwie bajkowa kraina symbioz owadów” (Buchner 1965, *Endosymbiosis of animals with plant microorganisms*. Interscience Publishers, New York).

Plan projektu zakłada pozyskanie dużej ilości przedstawicieli piewików z całego świata, z istniejących kolekcji, poprzez współpracę z innymi projektami, a także poprzez zbiór nowych prób w Polsce, Szwecji, U.S.A. i na Madagaskarze. **Tysiące reprezentatywnych osobników dla różnych zebranych populacji zostaną scharakteryzowane przy użyciu technik sekwencjonowania nowej generacji.** Dane te umożliwią precyzyjną rekonstrukcję pokrewieństwa pomiędzy zebranymi okazami piewików. Wyjaśnią również, w których gałęziach drzewa filogenetycznego piewików jedne symbionty zostały zastąpione przez inne, kiedy doszło do zastąpienia, i skąd pochodzą te zastępujące mikroorganizmy. Ponadto, projekt dostarczy informacji o funkcjach i ewolucji mikroorganizmów symbiotycznych i ich wpływu na biologię owadów-gospodarzy.

Realizacja projektu zaowocuje **kompleksowym obrazem relacji pomiędzy biologią piewików i cechami ich symbiontów.** Wyniki tych badań pozwolą na **szczegółowy opis procesów i mechanizmów determinujących relacje pomiędzy partnerami w relacjach symbiotycznych**, o znaczeniu dla szerokiego spektrum symbioz. Ponieważ wiele piewików ma istotne znaczenie dla rolnictwa i funkcjonowania ekosystemów, uzyskane wyniki mogą wpłynąć na strategie kontroli biologicznej i zarządzania zasobami naturalnymi. Poza tym, wiele mikroorganizmów zamieszkujących tkanki piewików należy do grup mających wpływ na zdrowie roślin, owadów, i innych organizmów włącznie z ludźmi. Proponowane badania dostarczą wyczerpujących informacji na temat biologicznego i ewolucyjnego potencjału tych grup.

Celem drugiego projektu, finansowanego przez grant NAWA Polskie Powroty i ze środków zagranicznych współpracowników, będzie kompleksowy opis zróżnicowania dynamiki ekologicznej i ewolucyjnej mikrobiomów w bardzo dużej kolekcji owadów.

Projekt będzie realizowany w bliskiej współpracy z projektem Insect Biome Atlas, który prowadzi długoterminowy zbiór owadów latających na kilkuset stanowiskach w Szwecji i na Madagaskarze (patrz sekcja 5e powyżej), jak również z innym zespołem (prof. Tomas Roslin, Swedish Agricultural University w Uppsali, Szwecja) który zbierze analogiczne próby na Grenlandii. Z zebranych przez współpracowników prób wybierzemy dziesiątki tysięcy osobników tak, by móc **opisać zróżnicowanie mikrobiomów pomiędzy gałęziami drzewa filogenetycznego owadów** (redukując efekt zmienności w czasie i przestrzeni). Dodatkowo, wybierzemy duże ilości osobników reprezentujących kilkadziesiąt szeroko rozmieszczonych gatunków tak, by **opisać zmienność mikrobiomów w czasie i przestrzeni w obrębie tych gatunków**. Następnie przy użyciu wysokoprzepustowych technik sekwencjonowania nowej generacji scharakteryzujemy skład mikrobiomów wybranych osobników. Analizy danych skoncentrują się na rekonstrukcji transmisji szczepów mikroorganizmów w obrębie i pomiędzy gatunkami owadów. Istotną częścią projektu będą też analizy porównawcze genomów mikroorganizmów reprezentujących gatunki infekujące wiele niespokrewnionych owadów.

Proponowany projekt poszerzy wiedzę dotyczącą różnorodności mikroorganizmów symbiotycznych kolonizujących tysiące gatunków owadów. Pozwoli na zrozumienie czynników które kształtują skład mikrobiomów, dostarczy informacji na temat ich zmienności w czasie i przestrzeni, oraz o wpływie symbioz na biologię gospodarzy. Uzyskane wyniki, ale także obszerny zbiór prób DNA utworzony w ramach tego projektu, będą cennym zasobem dla międzynarodowej społeczności badawczej w wielu dziedzinach nauk biologicznych. W połączeniu z danymi dotyczącymi bioróżnorodności, ekologii i ewolucji owadów w trzech bardzo różnych strefach klimatycznych, nasze wyniki pomogą opisać pełen zakres czynników kształtujących skład zbiorowisk owadów. Pozwolą też **zrozumieć potencjał mikroorganizmów symbiotycznych jako czynników umożliwiających przyspieszoną adaptację owadów do gwałtownie zmieniających się warunków klimatycznych.**

.....

Od jedenastu lat prowadzę badania w dziedzinie szeroko pojętej ewolucji symbioz owadów w wyróżniających się zespołach badawczych na kilku kontynentach. Przez ten czas nabyłem cenną wiedzę i umiejętności oraz zbudowałem sieć międzynarodowych kontaktów w tej szybko rozwijającej się dyscyplinie. Prócz zrealizowanych projektów i publikacji, moją pozycję w globalnej społeczności badawczej potwierdza lista czternastu wystąpień konferencyjnych, trzydziestu dziewięciu potwierdzonych recenzji artykułów w dwudziestu dwóch czasopismach, i czterech recenzji grantów dla zagranicznych agencji badawczych.

Przez ostatnie lata, zatrudniony byłem w projektach finansowanych ze środków pozyskanych przez moich opiekunów naukowych, w pełni koncentrując się na działalności badawczej; pozyskałem też kilka mniejszych grantów. Natomiast znaczące środki finansowe które udało mi się uzyskać w ciągu ostatnich miesięcy umożliwiają mój rychły powrót do Polski jako adiunkt badawczy i utworzenie nowego zespołu realizującego ambitny program badań na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie.


PIOTR LUKASIK
30.04.2019