

STRESZCZENIE

Od chwili pojawienia się na Ziemi pierwszej komórki, organizmy żywe są poddawane presji selekcyjnej wynikającej ze zmian temperatury i warunków tlenowych. Z czasem selekcja doprowadziła do ewolucji różnorodnych adaptacji i strategii życiowych. Jedną z najbardziej fundamentalnych cech, które ewoluowały, jest wielkość komórek tworzących organizmy. Wielkość komórek wpływa na wewnątrzkomórkową geometrię, organelle i procesy biochemiczne. Na poziomie biologii komórki wpływ różnic w wielkości komórek na ich wydajność został dotychczas dobrze udokumentowany. Jednak dopiero zaczynamy rozumieć sumaryczny wpływ komórek o różnej wielkości na organizm wielokomórkowy poddany oddziaływaniu środowiska i jego dostosowanie. Jednocześnie zmiany wielkości komórek indukowane przez czynniki środowiskowe, a w szczególności temperaturę i tlen w trakcie rozwoju i ewolucji, zostały opisane dla wielu jednostek taksonomicznych. Wyłaniająca się teoria optymalnej wielkości komórek (z ang. *theory of optimal cell size*, TOCS) przewiduje, że mniejsze komórki, o większym stosunku powierzchni do objętości, są bardziej korzystne dla organizmu w warunkach wyższej temperatury lub obniżonej zawartości tlenu. Z kolei większe, mniej efektywne pod względem transportu, ale jednocześnie mniej kosztowne energetycznie w utrzymaniu komórki, mogą stanowić adaptację do niższych temperatur lub warunków bogatszych w tlen. Tlen może być transportowany bardziej wydajnie poprzez błony komórkowe, tj. poprzez budujące je kwasy tłuszczowe, w porównaniu do dyfuzji w cytoplazmie komórek, którą stanowią głównie roztwory wodne. W związku z tym, organizmy o mniejszych komórkach, czyli z większym stosunkiem powierzchni do objętości, powinny wykazywać zwiększony potencjał transportu, a zatem mogą charakteryzować się relatywnie wyższą tolerancją na zmiany środowiskowe (temperatura, poziom tlenu, dostępność zasobów).

W skład mojej pracy doktorskiej wchodzi trzy osobne eksperymenty, które badały szereg hipotez w kontekście teorii optymalnej wielkości komórek (TOCS) w celu przewidzenia efektów wielkości komórek na wydajność muszek owocowych *Drosophila melanogaster* w warunkach różnego zapotrzebowania na tlen i jego dostępności w środowisku. Biorąc pod uwagę powszechność zmian wielkości komórek w przyrodzie, zrozumienie zależności pomiędzy rozmiarem komórek a czynnikami środowiskowymi i ich wpływem na wydajność organizmów, pomoże wnikać w kluczowe aspekty ekologii

i ewolucji wielu grup organizmów. Obejmuje to między innymi geograficzne rozmieszczenie gatunków i populacji, historię ewolucyjną organizmów na Ziemi oraz podatność organizmów na globalne zmiany klimatu. W ramach swoich badań wygenerowałam grupy muszek o różnym rozmiarze komórek, korzystając z izolinii, które ewoluowały w różnych reżimach termicznych, a następnie hodując każdą z izolinii w trzech różnych temperaturach. Użyłam istniejących już wcześniej izolinii o zachowanej zmienności genetycznej, pochodzącej z trzech reżimów termicznych, w których muszki ewoluowały przez dwa lata: warunki stabilnego zimna (16 °C), stabilnego gorąca (25 °C) i warunki zmieniające się co cztery tygodnie pomiędzy 16 a 25 °C. Przed każdym eksperymentem kopie izolinii były hodowane w trzech temperaturach rozwojowych: 16, 20,5 i 25 °C. Miało to na celu zwiększenie różnic w wielkości komórek pomiędzy badanymi grupami muszek poprzez plastyczność fenotypową rozmiaru komórek. W ten sposób najpierw potwierdziłam różnice w wielkości komórek i ciała pomiędzy wszystkimi grupami badawczymi, a następnie zbadalam wpływ wielkości komórek na dwa rodzaje wydolności fizycznej muszek: tolerancję na tymczasową paraliżującą hipoksję oraz preferencje termiczne w różnych warunkach tlenowych.

W pierwszym eksperymencie (Eksperyment 1) sprawdzałam czy wielkość komórek zmienia się w odpowiedzi na temperaturę w trakcie ewolucji oraz rozwoju zgodnie z przewidywaniami TOCS. Testowałam następujące hipotezy: że (i) ewolucja i/lub rozwój w wyższych temperaturach prowadzi do mniejszej wielkości komórek, podczas gdy ewolucja i/lub rozwój w niższych temperaturach skutkuje większymi komórkami. Dodatkowo przewidywałam, że (ii) ewolucja we fluktuującym środowisku powinna prowadzić do wykształcenia mniejszych komórek w porównaniu ze stabilnymi środowiskami, co może być korzystne dla muszek w radzeniu sobie z okresowo bardziej wymagającymi warunkami. Aby to sprawdzić, w Eksperymencie 1 mierzyłam wielkość prawie nieaktywnych metabolicznie komórek skrzydeł oraz wielkość bardzo aktywnych metabolicznie komórek w cewkach Malpighiego, a także wielkość ciała muszek. Drugie badanie (Eksperyment 2) koncentrowało się na przetestowaniu, czy muszki o mniejszych komórkach miały większą tolerancję na warunki hipoksji, zakładając, że małe komórki są bardziej efektywne w transporcie tlenu. Przewidywałam, że (iii) muszki z mniejszymi komórkami są mniej wrażliwe na głęboką hipoksję i szybciej odzyskują sprawność po tymczasowym niedoborze tlenu. Przetestowałam to poprzez odnotowywanie czasu pomiędzy momentem, gdy przy zmniejszającym się poziomie tlenu muszki traciły zdolność

do ruchu, a momentem, kiedy odzyskiwały aktywność po przywróceniu warunków normoksji. W Eksperymentie 3 wygenerowałam gradient termiczny, obejmujący zakres od 15 do 45 °C połączony z trzema poziomami tlenu (hipoksja - 5%, normoksja - 22%, lub hiperoksja - 31% O₂) aby zbadać wpływ wielkości komórek na preferencje termiczne i ich zależność od dostępności tlenu. Przewidywałam, że (iv) efektywny transport tlenu w mniejszych komórkach może być pomocny w warunkach hipoksji, co skutkowałoby wybieraniem wyższych temperatur przez muszki z małymi komórkami w porównaniu do muszek z dużymi komórkami. Oczekiwałam także, że (v) muszki będą wybierać niższe temperatury w warunkach hipoksji niż w warunkach normoksji, co pomagaloby im uniknąć niedostatecznie efektywnego zaopatrzenia w tlen względem zapotrzebowania. Dodatkowo, korzystając z mojego systemu badawczego (3 reżimy ewolucyjne x 3 temperatury rozwojowe), przewidywałam także, że (vi) fluktuacje termiczne pomiędzy pokoleniami skutkowałyby ewolucją wyższej plastyczności fenotypowej wielkości komórek w odpowiedzi na temperaturę, co byłoby widoczne jako bardziej strome normy reakcji termicznych w porównaniu do dwóch pozostałych reżimów ewolucyjnych (stabilny ciepły oraz stabilny zimny).

Eksperyment 1 potwierdził ogólne wzorce opisywane przez wcześniejsze badania dotyczące zmian wielkości komórek wraz z temperaturą. (i) Rozwój w wyższych temperaturach prowadził do wykształcenia mniejszych komórek, a niższe temperatury były związane z większymi komórkami. Taki sam efekt został wykazany dla wpływu stabilnych temperatur podczas ewolucji na wielkość komórek skrzydeł. Cewki Malpighiego wyewoluowały słaby odwrotny wzorzec – wielkość komórek wzrosła podczas ewolucji w ciepłej stabilnej temperaturze. Zgodnie z przewidywaniami (ii), najmniejsze komórki zostały odnotowane u muszek ewoluujących w środowisku termicznie zmiennym, co wspiera hipotezę, że małe komórki są korzystniejsze w bardziej wymagających warunkach. Eksperyment 2 wykazał, że (iii) muszki o mniejszych komórkach, o których spekulowałam, że będą zdolne do szybszego odzyskania sprawności po tymczasowej utracie aktywności z powodu krótkiego okresu głębokiej hipoksji, były w rzeczywistości bardziej wrażliwe na niedobór tlenu i pozostawały nieaktywne przez dłuższy czas niż inne grupy. Wyniki Eksperymentu 3 dotyczące wpływu wielkości komórek na preferencje termiczne wykazały bardzo skomplikowany wzorzec, nie w pełni potwierdzający moją hipotezę, że (iv) efektywny transport tlenu w mniejszych komórkach może być korzystny w warunkach hipoksji. Mimo

to, znalazłam wyraźne podparcie idei, że (v) aby uniknąć niedoborów w dostawach tlenu względem zapotrzebowani, muszki wybierałyby niższe temperatury przy niższym poziomie tlenu. Wbrew mojej hipotezie (vi), muszki pochodzące z reżimu ewolucyjnego z termicznymi fluktuacjami nie ewoluowały wyższej plastyczności fenotypowej rozmiaru komórek w odpowiedzi na temperaturę rozwoju w porównaniu do osobników z dwóch pozostałych stabilnych reżimów termicznych.

Podsumowując, badane typy komórek zazwyczaj podążały za przewidywanym wzorcem odwrotnej zależności pomiędzy temperaturą a wielkością komórek, jednak ich odpowiedzi nie były w pełni zsynchronizowane, a temperatura podczas rozwoju wydawała się mieć wyraźniejszy wpływ niż warunki termiczne podczas ewolucji. Wielkość komórek nie przekładała się bezpośrednio na poziom wrażliwości na niedobór tlenu ani na różnice w reakcjach behawioralnych na poziom tlenu. Jednak badania wydajności fizjologicznej muszek, mimo że nie w pełni potwierdziły moje hipotezy, pozwoliły mi na wyciągnięcie nowych wniosków i zasugerowanie pomijanych do tej pory możliwości. Zgodnie z oczekiwaniem, rozmiar komórek zmieniał się w reakcji na warunki termiczne, zarówno w skali ewolucyjnej jak i podczas rozwoju. Ponadto, część pozostałych wyników można tłumaczyć cechami związanymi z wielkością komórek, które należy szczegółowo zbadać w przyszłości. Mianowicie, niektóre bardziej złożone wzorce uzyskane w badaniach wydolności fizjologicznej mogą być wyjaśnione potencjałem transportowym komórek, płynnością błon i kosztami ich utrzymania, zwłaszcza w kontekście zapotrzebowania na tlen i jego dostarczania. Wszystko to wskazuje na nowe kierunki rozwoju TOCS.