

dr hab. Marcin Czarnołęski  
Instytut Nauk o Środowisku  
Uniwersytet Jagielloński  
Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

Kraków, 10 lutego 2017

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr. Adama Hermaniuka, Instytut Biologii Uniwersytetu w Białymstoku, zatytułowanej „The impact of cell size on metabolic rate, growth rate and development in amphibians: A case study on the diploid and triploid edible frogs (*Pelophylax esculentus*)”.

### A) Ogólna struktura

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa jest napisana w języku angielskim i łącznie liczy 65 stron. Jej główną część stanowią trzy rozdziały, każdy w formie opublikowanej pracy naukowej (dwie publikacje z *Physiological and Biochemical Zoology*, jedna z *Herpetologica*). Rozdziały wzbogacone są wspólnym wstępem i dyskusją. Rozprawa zawiera także streszczenie w języku polskim i angielskim oraz spis publikacji do których odwołuje się wstęp i dyskusja. Pan Hermaniuk jest pierwszym autorem każdej z przedstawionych publikacji, a oświadczenia współautorów (załącznik na końcu rozprawy) potwierdzają istotną rolę doktoranta w powstaniu każdej publikacji.

### B) Główne dokonania

Choć każdy organizm na Ziemi składa się z komórek, konsekwencje ewolucyjne różnej budowy komórkowej ciała są często pomijane przez biologów. Na adaptacyjne znaczenie rozmiaru komórek zwracano uwagę już w połowie ubiegłego wieku, jednak dopiero niedawno perspektywa ta zaczęła cieszyć się większym uznaniem w badaniach narodzin różnorodności biologicznej na Ziemi. Z pewnością stosunkowo słabe zainteresowanie rozmiarem komórek wynika z pracochłonności takich badań, ale można je też przypisywać zniechęceniu przez negatywne wyniki badań Ellenbya. W roku 1953, Ellenby opublikował pracę ‘Oxygen consumption and cell size: a comparison of the rate of oxygen consumption of diploid and triploid prepupae of *Drosophila melanogaster* Meigen. *J. Exp. Biology* (30:475-491), z której wynika, że muszki owocowe charakteryzują się podobnym tempem konsumpcji tlenu bez względu na stopień ploidalności i rozmiar komórek.

Pana Hermaniuka nie zraziły zarówno trudności metodologiczne pomiaru komórek jak i wyniki Ellenbaya. Badając żaby wodne, będące genetycznymi hybrydami żaby jeziorkowej i żaby śmieszki, doktorant wykazał, że w porównaniu z formami triploidalnymi, formy diploidalne żab charakteryzowały się mniejszymi komórkami w trzech tkankach i jednocześnie wyższym tempem metabolizmu spoczynkowego, w przeliczeniu na jednostkę masy. Ważnym odkryciem doktoranta jest wykazanie, że związek między ploidalnością i rozmiarem komórek, a metabolizmem istnieje wśród wczesnych stadiów rozwojowych (wodne kijanki), ale nie w późniejszych stadiach które żyją na lądzie. Inspirując się tym odkryciem, trzecia publikacja doktoranta dokonuje syntezy danych publikowanych na temat związku między ploidalnością a tempem metabolizmu. Z syntezy tej

wyłania się ciekawy obraz: taki związek udaje się wykryć częściej u organizmów wodnych niż u lądowych. Propozycja wytłumaczenia takiego zjawiska jest spójna z najnowszymi informacjami na temat powiązań między rozmiarem komórek, a efektywnością dostarczania tlenu do mitochondriów: środowisko wodne charakteryzuje zmniejszona dostępność tlenu, a zatem to właśnie w tym środowisku należy się spodziewać wyraźniejszego wpływu rozmiarów komórek na tempo metabolizmu (małe komórki ułatwiałyby korzystanie z tlenu w hipoksji). Mechanizm ten może na przykład wytłumaczyć dlaczego Ellenbay badając muszki owocowe nie wykrył różnic w metabolizmie między diploidami i triploidami.

Za bardzo cenne w badaniach doktoranta uważam także powiązanie problemu ploidalności, wielkości komórek i metabolizmu, ze zjawiskiem wpływu temperatury na cechy historii życia i rozmiar komórek. Badania doktoranta potwierdzają wiele hipotez, które nie doczekały się testowania z powodu braku odpowiednich danych. Na przykład, badając aż trzy tkanki naraz doktorant uzyskał dane, które wspierają przewidywania, że mechanizmy rozwojowe koordynują zmiany wielkości komórek w różnych tkankach. Kijanki rozwijające się w cieplejszych warunkach osiągały mniejsze rozmiary ciała i mniejsze komórki na tym samym etapie rozwoju co kijanki w zimniejszych warunkach. Ten wyniki wspiera hipotezę o powiązaniu między wrażliwością termiczną wielkości komórek, a plastycznością fenotypową rozmiarów ciała. Powszechny wśród organizmów zmiennocieplnych negatywny związek między temperaturą a rozmiarami dorosłymi (tzw. temperature-size rule) pozostaje jedną z większych zagadek biologicznych.

Podsumowując główne dokonania doktoranta, pragnę podkreślić bardzo ciekawy i szeroki kontekst ewolucyjno-fizjologiczny badań Pana Hermaniuka, a także poprawność metodologiczną przeprowadzonych badań. Zresztą nie jest to tylko moja opinia – trzy publikacje doktoranta w bardzo dobrych czasopismach międzynarodowych musiały być równie wysoko ocenione przez recenzentów tych prac.

### **C) Uwagi i pytania**

- 1) W ogólnym wstępie do rozprawy brakowało mi przedstawienia mechanizmu hybrydogenezy u badanych organizmów oraz zarysowania ewolucyjnego kontekstu tego zjawiska. Jestem ciekaw jak doktorant widzi wyniki swoich badań na tle tego szerszego kontekstu. Zjawisko hybrydogenezy u żab wodnych związane jest z problemem konfliktów genowych, zapadką Mullera, czy ewolucją seksu. Doktorant często zastanawiał się nad korzyściami z większych lub mniejszych komórek, ale czy w obliczu hybrydogenezy o takich korzyściach można w równym stopniu mówić w odniesieniu do obu rodzajów genomów tworzących hybrydę?
- 2) We wstępie brakowało mi obszerniejszych informacji na temat rozmieszczenia geograficznego dwóch bohaterów badań, a więc genomu R oraz genomu L. Jak doktorant wykorzystałby wyniki swoich badań do zrozumienia mechanizmów różnicujących to rozmieszczenie? Ciekawych poszlak dostarczają na przykład wcześniejsze badania na temat różnej wrażliwości kijanek żaby wodnej, jeziorkowej i żaby śmieszki na warunki tlenowe w wodzie. Jestem także ciekawy czy z pomiarów warunków tlenowych i termicznych prowadzonych w terenie przez doktoranta wyłaniają się jakieś ciekawe zależności w powiązaniu z badanymi żabami.
- 3) W zastosowanym przez doktoranta schemacie eksperymentalnym, efekty losowe zbiornika hodowlanego i efekty ustalone temperatury są nie do rozróżnienia albowiem do wyhodowania kijanek w dwóch różnych temperaturach, doktorant użył po jednym zbiorniku na temperaturę. Z

punktu widzenia statystycznego, korzystniejszym rozwiązaniem byłoby użycie większej liczby zbiorników, dzięki czemu możliwe stałoby się uniezależnienie od siebie obu efektów.

- 4) Po wyhodowaniu kijanek w 19 i 24 °C, przeobrażone żaby zostały umieszczone we wspólnej temperaturze 23 °C, z dodatkowym źródłem ciepła do wygrzewania. Po trzech miesiącach hodowli w tych warunkach, żaby zostały zbadane pod względem rozmiarów komórek i tempa metabolizmu. Analiza ta nie wykazała efektów temperatury rozwoju kijanek na rozmiar komórek czy metabolizm żab po metamorfozie. Jedną z hipotez tłumaczących zanik efektu warunków termicznych w czasie rozwoju może być upodobnienie się rozmiaru komórek ze względu na jednakowe warunki termiczne po przeobrażeniu. Żaby zapewne wciąż rosły przez trzy miesiące po przeobrażeniu, co stwarzało dogodne warunki rozwojowe do zmiany wielkości komórek, w szczególności w takim organie jak wątroba.
- 5) Doktorant dysponuje danymi o erytrocytach u kijanek i żab dorosłych, dzięki którym można porównać czy zmiana wielkości erytrocytów między stadium kijanki a stadium dorosłym przebiegała w podobny sposób w zależności od stopnia ploidalności, a także temperatury rozwoju kijanek. Ciekawe, czy ewentualne różnice w stopniu zmiany wielkości erytrocytów można wiązać z tym, że jedne żaby doświadczyły w czasie rozwoju wzrostu temperatury z 19 na 23°C a inne spadku temperatury z 24 na 23 °C?

## Podsumowanie

Przedstawione mi do oceny badania Pana Adama Hermaniuka dotyczą ważnego ale trudnego do badania i przez to bardzo słabo poznanego zjawiska biologicznego. Doktorant świetnie poradził sobie z tym wyzwaniem, prowadząc badania z dbałością o szczegóły. Co więcej, koncentrując się na jednym głównym pytaniu, które jest przedmiotem rozprawy, doktorant nie zawęził swojej perspektywy i przeprowadził szeroką dyskusję swoich wyników na tle wyników innych autorów, co zaowocowało zaproponowaniem hipotezy, która jest w stanie wytłumaczyć zróżnicowanie wśród publikowanych wyników jako objaw jednego zjawiska. Badania Pana Hermaniuka uważam za wartościowy wkład w dziedzinę ekologii ewolucyjnej i fizjologicznej. Publikując wyniki w liczących się czasopiśmie międzynarodowych, doktorant dowiódł, że swobodnie porusza się na froncie badań współczesnej biologii. Wnioskuje do Rady Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu w Białymstoku o dopuszczenie Pana mgr. Adama Hermaniuka do dalszych etapów przewodu doktorskiego, a także o nagrodzenie rozprawy odpowiednim wyróżnieniem. Uważam, że niniejsza rozprawa doktorska spełnia wymagania stawiane przez Ustawę z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz w Ustawie z dnia 18 marca 2011 r. o zmianie ustawy – Prawo o szkolnictwie wyższym, ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.



Marcin Czarnołęski