

ALEJANDRO IBÁÑEZ RICOMA

**PODSUMOWANIE OSIĄGNIĘĆ ZAWODOWYCH
(AUTOREFERAT)**

TŁUMACZENIE Z ORYGINAŁU W JĘZYKU ANGIELSKIM

Załącznik nr 2

2. PODSUMOWANIE OSIĄGNIĘĆ ZAWODOWYCH

1. Imię i nazwisko

Alejandro Ibáñez Ricoma

2. Uzyskane stopnie naukowe

2014 Doktorat w dyscyplinie nauki biologiczne. Wydział Ekologii Ewolucyjnej, Narodowe Muzeum Historii Naturalnej (Museo Nacional Ciencias Naturales, MNCN-CSIC), **Hiszpania** (obrona doktoratu odbyła się na Uniwersytecie Complutense w Madrycie).

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Funkcja sygnałów złożonych w doborze płciowym i strategiach unikania drapieżników na przykładzie żółwia hiszpańskiego *Mauremys leprosa leprosa*”. Promotorzy: prof. José Martín i dr Pilar López.

2010 Magisterium na kierunku Biologia ewolucyjna. Wydział Biologii, Uniwersytet Complutense w Madrycie (Universidad Complutense de Madrid), **Hiszpania**. Tytuł pracy dyplomowej: „Rozpoznawanie cech osobniczych u żółwia hiszpańskiego (*Mauremys leprosa*) na podstawie sygnałów chemicznych”. Promotor: dr Pilar López.

2009 Licencjat na kierunku Biologia

Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Autonomiczny w Barcelonie (Universitat Autònoma de Barcelona), Barcelona, **Hiszpania**

3. ZATRUDNIENIE

2021 (kwiecień) do chwili obecnej – Adiunkt badawczy w Katedrze Ekologii i Zoologii Kręgowców, Uniwersytet Łódzki, Łódź, **Polska**

2018 - 2021 – Asystent badawczy w Instytucie Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, **Polska**

2015 - 2017 – Staż podoktorski (*post-doc*) (stypendium Fundacji im. Alexandra von Humboldta) w Instytucie Zoologii, Uniwersytet Techniczny w Brunszwiku (Technische Universität Braunschweig), Brunszwik, **Niemcy**

4. OPIS OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Tytuł

Budowa, funkcja i ewolucja gruczołów naskórkowych u gadów

Publikacje

Na osiągnięcie naukowe składa się sześć publikacji opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych, tj. w latach 2015-2022 (numeracja jak w załączniku 3).

26. **Ibáñez A**, Skupien-Rabian B, Jankowska U, Kędracka-Krok S, Zając B, Pabijan, M. 2022. Functional Protein Composition in Femoral Glands of Sand Lizards (*Lacerta agilis*). *Molecules*, 27:2371. DOI: 10.3390/molecules27072371. (IF=4,927, IF5y=5,11, MEiN=140, liczba cytowań=0). *Wkład: opracowanie koncepcji, pozyskanie funduszy (na prace terenowe i laboratoryjne), napisanie manuskryptu, sformułowanie wniosków.*

25. **Ibáñez A**, Fritz U, Auer M, Martínez-Silvestre A, Praschag P, Załugowicz E, Podkowa D, Pabijan M. 2021. Evolutionary history of mental glands in turtles reveals a single origin in an aquatic ancestor and recurrent losses independent of macrohabitat. *Scientific Reports*, 11:10396. DOI: 10.1038/s41598-021-89520-w (IF=4,997, IF5y=5,516, MEiN=140, liczba cytowań=0). *Wkład: opracowanie koncepcji, pozyskanie środków finansowych (na prace terenowe i laboratoryjne), pobranie próbek w terenie, zebranie i analiza danych, napisanie manuskryptu, sformułowanie wniosków.*
22. Tellkamp F*, Lang F*, **Ibáñez A*** (wspólne pierwsze autorstwo), Abraham L, Quezada G, Günther S, Looso M, Tann FJ, Müller D, Cemic F, Hemberger J, Steinfartz S, Krüger M. 2020. Proteomics of Galápagos marine iguanas links function of femoral gland proteins to the immune system. *Molecular & Cellular Proteomics*, 19:1523-1532. DOI: 10.1074/mcp.RA120.001947. (IF=5,911, IF5y=6,627, MEiN=140, liczba cytowań=1). *Wkład: opracowanie koncepcji, pozyskanie środków finansowych (na prace terenowe), pobranie próbek w terenie, udział w przygotowaniu manuskryptu, sformułowanie wniosków.*
21. **Ibáñez A**, Martínez-Silvestre A, Podkowa D, Woźniakiewicz A, Woźniakiewicz M, Pabijan M. 2020. The chemistry and histology of sexually dimorphic mental glands in the freshwater turtle, *Mauremys leprosa*. *PeerJ* 8:e9047. DOI: 10.7717/peerj.9047. (IF=2,984, IF5y=3,537, MEiN=100, liczba cytowań=1). *Wkład: opracowanie koncepcji, pozyskanie środków finansowych (na prace terenowe i laboratoryjne), pobranie próbek w terenie, zebranie i analiza danych, napisanie manuskryptu, sformułowanie wniosków.*
15. **Ibáñez A**, Menke M, Quezada G, Jiménez-Uzcátegui G, Schulz S, Steinfartz S. 2017. Diversity of compounds in femoral secretions of Galápagos iguanas (genera: *Amblyrhynchus* and *Conolophus*), and their potential role in sexual communication in lek-mating marine iguanas (*Amblyrhynchus cristatus*). *PeerJ* 5:e3689. DOI: 10.7717/peerj.3689. (IF= 2,118, IF5y=3,537, MEiN=100, liczba cytowań=10). *Wkład: opracowanie koncepcji, pozyskanie środków finansowych (na prace terenowe), pobranie próbek w terenie, zebranie i analiza danych, napisanie manuskryptu, sformułowanie wniosków.*
11. Martín J, Martínez-Silvestre A, López P, **Ibáñez A**, Rodríguez-Domínguez MÁ, Verdaguer I. 2015. Lipophilic compounds in femoral secretions of males and females of the El Hierro giant lizard *Gallotia simonyi* (Lacertidae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 61:286-292. DOI: 10.1016/j.bse.2015.06.027. (IF=0,988, IF5y=1,394, MEiN=40, liczba cytowań=6). *Wkład: opracowanie koncepcji, udział w przygotowaniu manuskryptu, sformułowanie wniosków.*

Podsumowanie naukometryczne dla osiągnięcia naukowego:

Łączny 5-letni Impact Factor: **25,72**

Sumaryczny Impact Factor (rok publikacji): **21.93**

Łączna liczba punktów MEiN (lista opublikowana w 2021): **660**

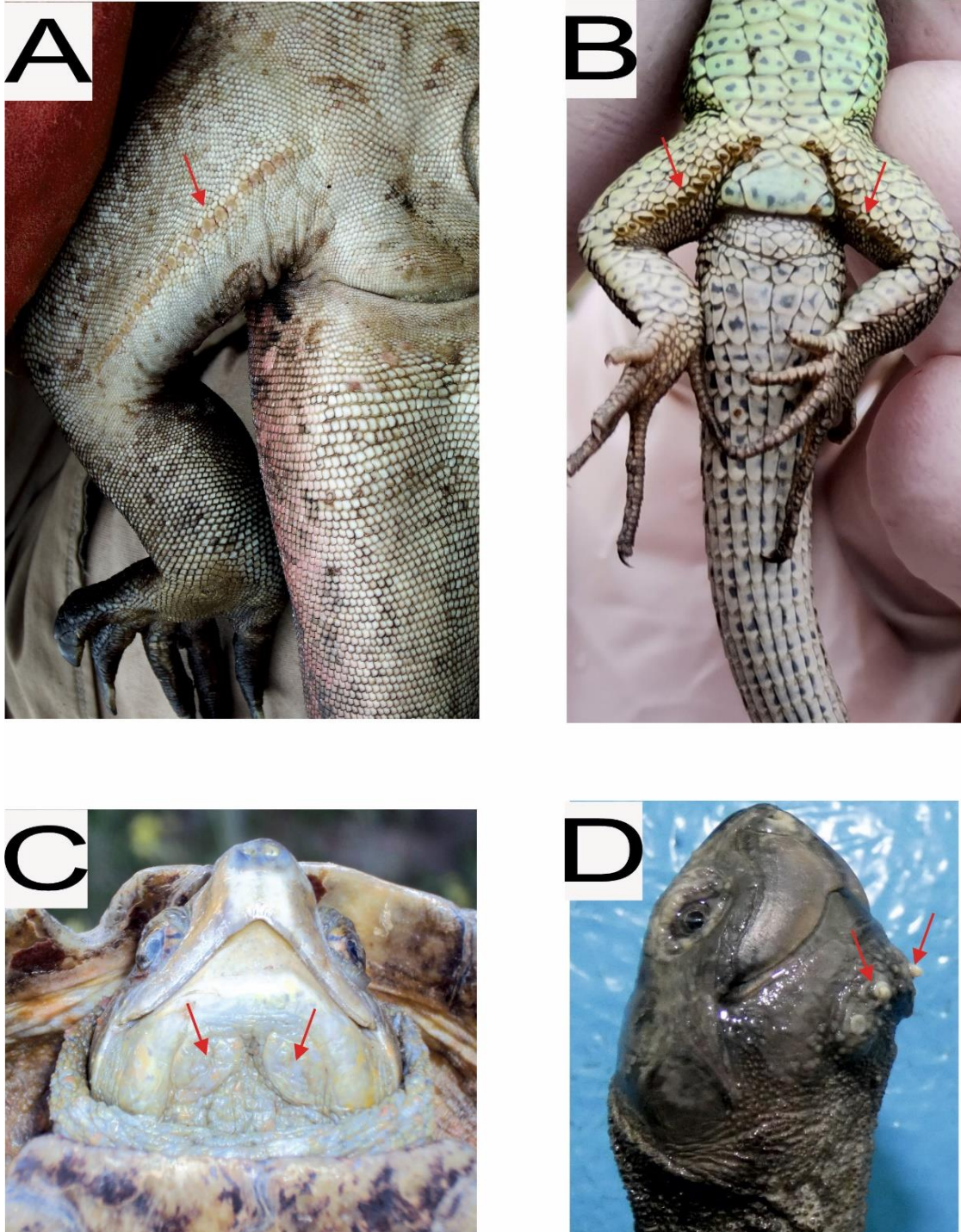
Całkowita liczba cytowań wg Scopus (21-03-2023): **18**

Opis

Podstawowe informacje

Komunikacja za pomocą sygnałów chemicznych, w tym feromonów, jest jednym z najstarszych rodzajów komunikacji między organizmami żywymi. Feromony występują w większości – o ile nie we wszystkich – głównych grupach zwierząt, w tym w grupach taksonomicznych odległych filogenetycznie lub rozbieżnych ekologicznie, co dowodzi znaczenia, jakie mają one w całym królestwie zwierząt. Na przykład, pomimo istotnych różnic pomiędzy warunkami środowiskowymi siedlisk lądowych i wodnych, wiele żyjących w nich organizmów wykorzystuje sygnały chemiczne na potrzeby komunikacji (Wyatt 2014). Wewnątrzgatunkowa komunikacja chemiczna była badana szerzej w niektórych grupach zwierząt, takich jak owady i ssaki, ale wiedza o pozostałych grupach jest bardziej powierzchowna (Symonds i Elgar 2008). Chociaż gadom nie poświęcono dotąd tak wiele uwagi jak innym grupom zwierząt, to są one bardzo obiecującym modelem do badania wewnątrzgatunkowej komunikacji chemicznej ze względu na ich znaczną zdolność do rozróżniania zapachów i poleganie na sygnałach chemicznych w zachowaniach społecznych. Ponadto, wiele gatunków gadów posiada zdolność wydzielania sygnałów chemicznych, w tym feromonów, poprzez skórę lub za pomocą wyspecjalizowanych gruczołów naskórkowych (Mason i Parker 2010). Gruczoły udowe (GU) u jaszczurek (rzędu gadów łuskonośnych nieobejmującego węży) i gruczoły bródkowe (GB) u żółwi należą do głównych narządów produkujących feromony u gadów (patrz Ryc. 1). GU występują w brzusznej części tylnych kończyn niektórych jaszczurek, natomiast GB to parzyste narządy zlokalizowane na podbródku u niektórych gatunków żółwi. Oba gruczoły są strukturami holokrynowymi, które wytwarzają lipidy i białka (Weldon i in. 2008). Chociaż GB są znacznie mniej dokładnie zbadane niż GU, wykazano, że oba rodzaje gruczołów mogą wytwarzać związki lipofilne wykorzystywane do sygnalizacji chemicznej [np. niektóre kwasy tłuszczowe u żółwi lądowych z rodzaju *Gopherus*, kilka rodzajów lipidów u różnych gatunków jaszczurek (patrz Martín i López 2011)]. Białka były badane w znacznie mniejszym stopniu niż lipidy i pomimo niedawnych badań przeprowadzonych u jaszczurek (np. Mangiacotti i in. 2021), dokładne rodzaje wydzielanych przez gruczoły białek u większości gatunków pozostają nieznane.

Różnorodność i funkcja związków chemicznych wytwarzanych przez gruczoły pozostaje nieznaną u zdecydowanej większości gadów. Ta luka badawcza rozciąga się na podstawowe mechanizmy, które kształtowały ewolucję feromonów i gruczołów naskórkowych u kręgowców.



Rycina 1. Makroskopowy wygląd gruczołów naskórkowych u samców różnych gatunków gadów. Gruczoły udowe u legwana morskiego z wysp Galapagos *Amblyrhynchus cristatus* (A) i jaszczurki zwinki *Lacerta agilis* (B). Gruczoły bródkowe u żółwia hiszpańskiego *Mauremys leprosa* (C) i żółwia gruboszyjnego *Siebenrockiella crassicollis* (D). Czerwone strzałki wskazują gruczoły epidermalne.

Streszczenie

W moich badaniach wykorzystałem różnorodne techniki badawcze, takie jak chemia analityczna, biochemia i histologia, w połączeniu z analizą behawioralną i makroekologiczną, aby poznać swoistą funkcję sygnałów chemicznych, a także historię ewolucyjną gruczołów naskórkowych u gadów, używając jako modeli jaszczurek i żółwi.

Związki lipofilowe pochodzące z gruczołów udowych jaszczurek wyspiarskich [11, 15]

W trakcie mojej kariery naukowej opublikowałam łącznie 26 oryginalnych artykułów naukowych, w tym 12 związanych z gruczołami naskórkowymi lub komunikacją chemiczną u gadów. Część moich badań skupiła się na scharakteryzowaniu lipofilowych związków pochodzących z gruczołów udowych jaszczurek endemicznych, aby zrozumieć ich możliwą rolę w komunikacji seksualnej. Na przykład w **Martín et al. 2015 (Biochem. Syst. Ecol., [11])** scharakteryzowaliśmy związki obecne w gruczołach udowych samców i samic jaszczurki *Gallotia simonyi* z wyspy El Hierro – gatunku endemicznego dla Wysp Kanaryjskich. Analiza chemiczna z zastosowaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS) wykazała obecność steroidów (głównie cholesterolu), kwasów tłuszczowych i ich estrów, aldehydów, alkoholi, ketonów, skwalenu i estrów woskowych. Interesujące było zróżnicowanie międzypłciowe, przy czym u samców występowała szersza gama związków niż u samic (tj. odpowiednio 57 i 27 związków). Ponadto, samce charakteryzowały się większą ilością kwasów tłuszczowych i aldehydów niż samice. Z kolei steroidy, alkohole, estry woskowe i terpenoidy występowały w większych ilościach u samic niż u samców. U samic występują zatem duże ilości związków stabilnych, podczas gdy dla samców charakterystyczne są większe ilości związków zapachowych – np. kwasów tłuszczowych i aldehydów. Wyniki te sugerują wyraźne różnice płciowe, jeżeli chodzi o funkcję lipidów gruczołu udowego u jaszczurki z wyspy El Hierro. Specyficzna rola związków pochodzących z GU nie została zbadana eksperymentalnie, ale możliwą hipotezą byłoby, że większa ilość związków zapachowych może być wykorzystywana do krótkotrwałej komunikacji wewnątrzgatunkowej u samców.

W **Ibáñez i in. 2017 (PeerJ, [15])** przeprowadziliśmy jedno z najszerzej zakrojonych badań dotyczących wewnątrzgatunkowej zmienności sygnałów chemicznych u gadów. Scharakteryzowaliśmy lipofilowe związki pochodzące z gruczołów udowych legwanów morskich (*Amblyrhynchus cristatus*) z 11 wysp Archipelagu Galapagos. Używając metody GC-MS oraz chromatografu gazowego z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID), byliśmy w stanie

zidentyfikować łącznie 13 związków (steroidy i kwasy karboksylowe) u *A. cristatus*. Różnorodność i skład wydzieliny z GU różnił się w poszczególnych wyspiarskich populacjach legwanów morskich. W większości populacji głównym związkiem był cholesterol. Stanowił on około 20-40% wydzieliny, z wyjątkiem wysp Pinta i Española, gdzie jego udział spadał poniżej 20%. Skład i liczba lipidów różniły się pomiędzy poszczególnymi populacjami, ale co ciekawe, zmienność międzypopulacyjna nie odzwierciedlała struktury genetycznej legwanów morskich na całym archipelagu. Legwany morskie są endemiczne dla Wysp Galapagos i zazwyczaj na jednej wyspie występuje jeden klaster genetyczny lub podgatunek (MacLeod et al. 2015; Miralles et al. 2017). Istnieją pewne wyjątki, takie jak sąsiadujące ze sobą wyspy Floreana i Española, a także Fernandina i Isabela, które są zamieszkiwane przez ten sam podgatunek. Szczególna sytuacja ma miejsce na wyspie San Cristóbal, gdzie występują dwa odrębne podgatunki (*A.c. metensi* „La Loberia” zasiedlający południową część wyspy i *A.c. godzilla*, „Punta Pitt” występujący w jej północno-wschodniej części). Przepływ genów pomiędzy tymi dwoma podgatunkami wydaje się zahamowany lub znikomy, co sugeruje, że mamy do czynienia z rozpoczynającym się procesem specjacji wewnątrzwyspowej (MacLeod et al. 2015). Badając skład chemiczny wydzieliny gruczołów obu podgatunków legwanów występujących na wyspie San Cristóbal ustaliliśmy, że był on dość podobny. Wynik ten wskazuje więc, że lipidy gruczołów udowych odgrywają niewielką rolę w utrzymaniu odrębności tych dwóch populacji, a różnicowanie profilu chemicznego jest niezależne od genetycznej struktury populacji legwanów morskich.

Dodatkowo, dla porównania z próbkami *A. cristatus*, pobrano także próbki od trzymanyh w niewoli osobników legwanów lądowych (*Conolophus subcristatus*) – grupy najbardziej zbliżonej do legwanów morskich. Oprócz steroidów i kwasów karboksylowych, u legwanów lądowych wykryliśmy inne związki, w tym kilka rodzajów aldehydów, które były całkowicie nieobecne u legwanów morskich. Tak więc legwany lądowe i morskie znacznie różniły się pod względem składu wydzieliny GU, przy czym aldehydy były obecne tylko u tych pierwszych. Można to przypisać różnicom ekologicznym lub pokarmowym pomiędzy oboma gatunkami. Aldehydy są związkami wysoce lotnymi, dlatego możliwym wyjaśnieniem byłoby to, że są one bardziej odpowiednie do komunikacji na krótkich dystansach u legwanów lądowych. W przypadku legwanów morskich z kolei, terytorialne samce ustanawiają wzdłuż skalistego wybrzeża swoje terytoria (określane terminem „lek”), w których gromadzą się samice w celu odbycia godów. W tej sytuacji znakowanie terytorialne może być niezbędne dla dominujących samców do oznaczania i wytyczania terytoriów. Gdyby aldehydy były obecne w gruczołach udowych legwana morskiego, szybko zniknęłyby z pozostawianych przez niego śladów zapachowych, ze względu na swoją wysoką

lotność. Ich ewentualne utlenienie lub degradacja możliwe są zwłaszcza w warunkach wysokiej wilgotności (Apps et al. 2015). Zatem specyficzny system godów i wilgotne siedlisko legwanów morskich czyniłoby aldehydy nieprzydatnymi do komunikacji, co tłumaczy ich brak w przypadku wydzielin GU tego gatunku.

Znaleźliśmy jednak wstępne dowody na występowanie niektórych kwasów karboksylowych jako związków potencjalnie zaangażowanych w komunikację wewnątrzgatunkową u legwanów morskich. Na przykład, u samców legwana morskiego w lepszej kondycji fizycznej występowały większe ilości kwasu tetrakozanowego i kwasu 11-eikozenowego. Ponadto, poziom kwasu 11-eikozenowego był związany z obecnością samic na terytorium samca. Kwasy karboksylowe lub tłuszczowe mogą być pozyskiwane z diety i magazynowane w organizmie w postaci tłuszczów. Jedną z możliwości jest to, że związki te są transportowane do gruczołów udowych, gdzie mogą być wykorzystywane jako chemosygnaly. Mogłoby to wyjaśniać, dlaczego wydzieliny samców o lepszej kondycji fizycznej charakteryzują się większą ilością kwasu 11-eikozenowego i kwasu tetrakozanowego. W tym scenariuszu tylko samce z dużymi zapasami tłuszczu (tj. w dobrej kondycji fizycznej) mogły sobie pozwolić na wykorzystanie kwasów tłuszczowych w gruczołach. Z kolei samce w gorszej kondycji nie byłyby w stanie sobie pozwolić na taki wysiłek. Ponadto, samice częściej przebywały na terytoriach zajmowanych przez samce z dużą ilością kwasu 11-eikozenowego, co potwierdza tezę, że związek ten może potencjalnie stanowić feromon. Aby w pełni zrozumieć rolę kwasu 11-eikozenowego w komunikacji wewnątrzgatunkowej u legwanów morskich, konieczne jest zastosowanie podejścia eksperymentalnego lub próby biologicznej.

Identyfikacja białek i ich funkcja w gruczołach udowych jaszczurek [22, 26]

Podczas gdy lipofilowa frakcja gruczołów udowych została dotąd scharakteryzowana u kilku gatunków (patrz Weldon et al. 2008; Martín i Lopez 2014), badania skupiające się na frakcji białkowej są znacznie rzadsze. Chociaż białka mogą stanowić nawet 80% materiału w gruczołach udowych (Weldon et al. 2008), istota tych cząsteczek pozostaje nieznana. Dlatego, aby wypełnić tę lukę badawczą, wraz ze współpracownikami zbadaliśmy białka ulegające ekspresji w gruczołach udowych dwóch gatunków gadów: legwana morskiego z Wysp Galapagos (*A. cristatus*) i jaszczurki zwinki (*L. agilis*). Są to pionierskie badania w tej dziedzinie, ponieważ po raz pierwszy udało nam się rozszyfrować proteom gruczołów udowych u jaszczurek.

W naszym badaniu opublikowanym w *Molecular & Cellular Proteomics* (Tellkamp i in. 2020 [22]) zastosowaliśmy analizy transkryptomyczne i proteomiczne, aby zrozumieć funkcję białek w GU legwana morskiego. W tym celu przeanalizowano kilka rodzajów komórek, tkanek i wydzielin, w tym erytrocyty, wydzieliny gruczołu udowego, spermę, surowicę krwi, a także tkanki mózgu, serca, płuc, mięśni i skóry. W sumie wykryto 7513 białek, przy czym średnio ok. 4000 białek na tkankę i ok. 900 na próbkę surowicy. Duża liczba białek została zidentyfikowana w gruczołach udowych (4305 białek). Wśród białek swoistych dla gruczołów udowych wykryto białka o pochodzeniu naskórkowym oraz białka wiążące i modyfikujące lipidy, co jest zgodne z holokrynną i hydrofobową naturą gruczołów. Co ciekawe, niektóre białka były związane z odpowiedzią immunologiczną i mechanizmami obronnymi gospodarza, w tym miały właściwości przeciwdrobnoustrojowe.

Wynik ten był dalej analizowany poprzez wygenerowanie biblioteki potencjalnych peptydów przeciwdrobnoustrojowych (AMP). Przetestowano podzbiór 17 peptydów o przewidywanej aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Stwierdzono obniżenie tempa wzrostu kultur bakteryjnych *Escherichia coli* i *Bacillus subtilis* względem wzrastających stężeń peptydu kandydującego. Onkocyna (ang. *Oncocin*) – dobrze znany peptyd przeciwdrobnoustrojowy – oraz cztery peptydy bez przewidywanej aktywności przeciwdrobnoustrojowej pochodzące od legwana morskiego zostały użyte odpowiednio jako pozytywne i negatywne kontrole podczas prób biologicznych. Wyniki wykazały umiarkowaną, a nawet wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową kilku z badanych peptydów.

Podsumowując, badanie to wykazało, że białka wytwarzane w gruczołach udowych mogą pełnić różne funkcje, w tym w metabolizmie lipidów i w układzie odpornościowym, a także wykazywać działanie przeciwdrobnoustrojowe. Potencjalnym wyjaśnieniem jest to, że te białka i peptydy mogłyby chronić legwany morskie przed patogenami potencjalnie przedostającymi się do organizmu przez ujścia gruczołów. Jako efekt uboczny, białka gruczołów udowych mogłyby chronić lotną frakcję ich wydzielin zaangażowaną w komunikację wewnątrzgatunkową przed rozkładem przez mikroorganizmy obecne w środowisku.

Zaintrygowany uzyskanymi wynikami badań proteomu gruczołów udowych u legwanów z Wysp Galapagos badałem to zagadnienie dalej u innego, odległego gatunku łuskonośnych. W pracy **Ibáñez i in. 2022 (*Molecules* [26])**, zastosowaliśmy proteomikę opartą na spektrometrii masowej do zbadania proteomu gruczołu udowego u jaszczurek zwinek (*Lacerta agilis*) – gatunku szeroko rozpowszechnionego w Europie. Pobraliśmy próbki od 15 samców jaszczurek, co pozwoliło nam wykryć średnio (\pm SD) 815 (\pm 195) grup białek na próbkę wydzieliny z gruczołów udowych. Jednakże

liczba grup białkowych obecnych w wydzielinach z gruczołów udowych poszczególnych osobników była bardzo zróżnicowana. Wahala się ona od minimum 422 do maksimum 1097 białek. Pomimo zmiennej liczby białek wytwarzanych w gruczołach udowych, ustaliliśmy podzbiór białek częściej ulegających ekspresji u poszczególnych jaszczurek, ze stosunkowo wysoką korelacją pomiędzy próbkami, co wskazuje na ich stabilność funkcjonalną. Dalsze analizy funkcji białek skupiły się na 30 białkach o najwyższych wartościach Intensity-Based Absolute Quantification (iBAQ) (tj. tzw. „Top30”) i ujawniły, że białka o silnej ekspresji były związane z odpowiedzią immunologiczną, metabolizmem lipidów i aktywnością antyoksydacyjną. Znaleźliśmy na przykład kilka katepsyn, należących do rodziny enzymów proteazowych zaangażowanych w wiele procesów biologicznych. Niektóre z ich licznych funkcji obejmują wewnątrzkomórkową degradację białek i zaangażowanie w odpowiedź immunologiczną poprzez zdolność do przetwarzania antygenów (Conus i Simon 2008). Co ciekawe, katepsyna D była najsilniej wyrażonym białkiem u jaszczurek zwinek, będąc jednocześnie jednym z najobficiej występujących u legwanów morskich.

Kolejną cechą wspólną jaszczurek zwinek i legwanów morskich z Wysp Galapagos była obecność białek metabolizmu podstawowego lub wewnątrzkomórkowych. W grupie „Top30” białek jaszczurek zwinek znalazły się na przykład białka opiekuńcze, histony i białka cytoszkieletowe, a także dwa białka antyoksydacyjne. Enzymy antyoksydacyjne mogą chronić lipidy przed negatywnym wpływem warunków środowiskowych, takich jak np. wysoka wilgotność, które zwiększają peroksydację lipidów (Gabirot et al. 2008). Ponadto do najliczniej występujących należały białka pochodzenia naskórkowego, takie jak keratyny, a także białka związane z lipidami. Podobnie jak u legwanów morskich, wynik ten może odzwierciedlać lipofilny charakter i epidermalne pochodzenie gruczołów udowych.

Wyniki te obrazują złożoność proteomu gruczołów udowych u jaszczurek. Zaobserwowano niezwykle podobieństwo proteomu gruczołów legwanów morskich z Wysp Galapagos i jaszczurek zwinek pomimo braku bliskiego pokrewieństwa filogenetycznego między tymi dwoma gatunkami. Wyniki te wskazują, że przynajmniej u członków rodzin Lacertidae i Iguanidae, białka gruczołów mogą pełnić wiele funkcji, w tym immunoregulacyjną i dotyczącą metabolizmu lipidów. Potwierdzenie, czy prawidłowość ta występuje także u innych łuskonośnych, wymaga dalszych badań.

Mikrostruktura, skład i ewolucja gruczołów bródkowych u żółwi [21, 25]

Wyniki moich badań przeprowadzonych przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora wskazywały, że żółwie hiszpańskie mogą wykorzystywać sygnały chemiczne uwalniane do wody w celu orientacji i poszukiwania potencjalnych partnerów do rozrodu lub w celu unikania obszarów, na których mogliby bytować ich wewnątrzgatunkowi konkurenci [np. 1, 2, 7]. Dlatego też, zaintrygowany mechanizmami kształtującymi komunikację chemiczną u żółwi, postanowiłem dokładniej zbadać gruczoły bródkowe – jedno z głównych źródeł chemosygnatów u żółwi – w różnych ujęciach. Po pierwsze, w pracy **Ibáñez i in. 2020 (PeerJ [21])** przeprowadziliśmy szczegółowe badania składu chemicznego i mikroanatomii gruczołów bródkowych, wykorzystując jako model żółwia hiszpańskiego (*Mauremys leprosa*). Stosując połączenie mikroskopii świetlnej i transmisyjnej mikroskopii elektronowej odkryliśmy, że GB są złożonymi organami, w pełni rozwiniętymi u samców tego gatunku. Ich wydzieliny zawierają liczne pęcherzyki, cytoplazmę i fragmenty organelli pochodzące z degradacji komórkowej właściwej dla gruczołów holokrynowych. Natomiast gruczoły żeńskie to małe i silnie zrogowaciałe inwaginacje, które prawdopodobnie są niefunkcjonalne.

Analiza chemiczna wydzielin gruczołów bródkowych samców i samic tego gatunku z wykorzystaniem GC-MS wykazała obecność lipidów, których głównym składnikiem są steroidy (głównie cholesterol). Zidentyfikowano również kwasy karboksylowe, węglowodany, alkany, alkohole i inne związki. Zmienność płciową odnotowano w odniesieniu do zaledwie kilku związków, przy czym większość z nich występowała u obu płci. U samic występowały jednak większe ilości trzech związków, prawdopodobnie pochodzących ze skóry, ponieważ gruczoły bródkowe u samic były małe i szczątkowe, bez oznak aktywności. Samce charakteryzowały się natomiast większą ilością dwóch kwasów karboksylowych i jednego steroidu (kampesterol – fitosterol prawdopodobnie pozyskiwany z pożywienia). Nie jest jasne, jak kwasy karboksylowe mogłyby być wykorzystywane przez żółwie słodkowodne w środowisku wodnym, ale feromony steroidowe lub sterolopodobne występują też u innych kręgowców wodnych – minogów i ryb (Sorensen et al. 2005; Barata et al. 2008). Jasne jest jednak, że gruczoły bródkowe są dobrze rozwinięte i funkcjonalne tylko u samców, u których występują także większe ilości niektórych związków. Wymagają one dalszych badań obejmujących próby biologiczne, co pozwoliłoby w pełni zrozumieć ich potencjalny udział w sygnalizacji chemicznej.

W naszej ostatniej pracy opublikowanej w ***Scientific Reports* (Ibáñez i in. 2021 [25])** zrekonstruowana została historia ewolucji gruczołów bródkowych u żółwi z wykorzystaniem

molekularnie datowanego drzewa filogenetycznego opracowanego przez Pereira et al. (2017). Naszym celem było zrozumienie pochodzenia (pojedynczego albo wielokrotnego) gruczołów bródkowych oraz zbadanie, czy warunki środowiskowe mogły sprzyjać rozwojowi tej cechy lub ograniczać go. Aby osiągnąć ten cel, przeprowadziliśmy szeroko zakrojone badania, analizując okazy z kolekcji muzealnych oraz osobniki żywe pod kątem obecności lub braku gruczołów bródkowych. Opierając się na własnej ocenie uwzględnionych okazów i wcześniejszej literaturze (patrz Winokur i Legler 1975), stworzyliśmy kompleksową bazę danych dotyczącą występowania gruczołów bródkowych u żółwi, opartą na ponad 1700 ocenionych okazach. Występowanie gruczołów bródkowych zostało odwzorowane w filogenezie żółwi, co pozwoliło na odtworzenie historii ewolucyjnej tej cechy, wskazując na jedno pochodzenie tych gruczołów, a tym samym prowadząc do wniosku, że są to struktury homologiczne u wszystkich potomnych linii żółwi.

Ponadto przeprowadziliśmy także badania histologiczne gruczołów bródkowych u wybranych gatunków żółwi. Podobieństwa w anatomii i strukturze gruczołów u poszczególnych gatunków przemawiają za homologią tej cechy. Analiza filogenetyczna wykazała, że GB pojawiły się po raz pierwszy u przodka nadrodziny Testudinoidea. Od tego czasu mogły one zostać utracone wielokrotnie (nawet 15-18 razy). Mimo że przodek Testudinoidea był żółwiem wodnym, wielokrotna utrata gruczołów bródkowych dotyczy zarówno linii lądowych, jak i wodnych. Dlatego wydaje się mało prawdopodobne, by makrosiedlisko było głównym czynnikiem wpływającym na utratę gruczołów bródkowych w różnych liniach. Wynik ten sugeruje, że ewolucja tych gruczołów u żółwi może być determinowana przez inne czynniki.

Prezentowane osiągnięcia naukowe miały istotne znaczenie dla poszerzenia wiedzy w kilku obszarach komunikacji chemicznej u gadów. W szczególności, moje badania dotyczyły różnorodności sygnałów chemicznych u niedostatecznie zbadanych i zagrożonych gatunków wyspiarskich jaszczurek i ujawniły: 1) różnice płciowe u jaszczurki olbrzymiej z El Hierro; 2) różnice międzygatunkowe u legwanów z Wysp Galapagos (rodzaje *Conolophus* i *Amblyrhynchus*), zmienność międzypopulacyjną u legwanów morskich, jak również potencjalną rolę niektórych kwasów tłuszczowych w komunikacji seksualnej u tego gatunku. Ponadto, w ramach tego osiągnięcia naukowego wykazano 3) immunoregulacyjne funkcje niektórych białek gruczołowych u jaszczurek zwinek i legwanów morskich, w tym aktywność przeciwdrobnoustrojową białek u tego ostatniego gatunku, co otwiera nowe, ekscytujące i obiecujące kierunki przyszłych badań. Wyniki uzyskane w tej części pracy naukowej wykazały również: 4) wyraźne różnice płciowe w zakresie mikroanatomii gruczołów bródkowych, a także

zmienność płciową w zakresie składu lipofilowego, obserwowaną w zaledwie kilku związkach u żółwi hiszpańskich. Wreszcie, badania te wyjaśniły 5) ewolucję gruczołów bródkowych u żółwi poprzez zastosowanie nowoczesnej analizy filogenetycznej, ujawniając, że narządy te są strukturami homologicznymi, które zostały utracone wielokrotnie w różnych kładach żółwi, niezależnie od makrosiedliska.

Piśmiennictwo

- Apps PJ, Weldon PJ, Kramer M. 2015. Chemical signals in terrestrial vertebrates: search for design features. *Natural Product Reports* 32: 1131-1153.
- Barata EN, Fine JM, Hubbard PC, Almeida OG, Frade P, Sorensen PW, Canário AV. 2008. A sterol-like odorant in the urine of Mozambique tilapia males likely signals social dominance to females. *Journal of Chemical Ecology* 34: 438-449.
- Conus S, Simon H-U. 2008. Cathepsins: key modulators of cell death and inflammatory responses. *Biochemical Pharmacology* 76: 1374-1382.
- Gabirot M, López P, Martín J, De Fraipont M, Heulin B, Sinervo B, Clobert J. 2008. Chemical composition of femoral secretions of oviparous and viviparous types of male common lizards *Lacerta vivipara*. *Biochemical Systematics and Ecology* 36: 539-544.
- MacLeod A, Rodríguez A, Vences M, Orozco-terWengel P, García C, Trillmich F, Gentile G, Caccone A, Quezada G, Steinfartz S. 2015. Hybridization masks speciation in the evolutionary history of the Galápagos marine iguana. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 282: 20150425.
- Mangiacotti M, Baeckens S, Scali S, Martín J, Van Damme R, Sacchi R. 2021. Evolutionary and biogeographical support for species-specific proteins in lizard chemical signals. *Biological Journal of the Linnean Society* 134: 912-928.
- Martín J, López P. 2011. *Pheromones and reproduction in reptiles*. In *Hormones and Reproduction of Vertebrates* (eds Norris DO, Lopez KH), pp. 141-167. Academic Press, San Diego, California.
- Martín J, Lopez P. 2014 *Pheromones and chemical communication in lizards*. In *Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara* (eds Rheubert JL, Siegel DS, Trauth SE), pp. 43-77. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Mason RT, Parker MR. 2010. Social behavior and pheromonal communication in reptiles. *Journal of Comparative Physiology A* 196: 729-749.
- Miralles A, Macleod A, Rodríguez A, Ibáñez A, Jiménez-Uzategui G, Quezada G, Vences M, Steinfartz S. 2017. Shedding light on the Imps of Darkness: an integrative taxonomic revision of the Galápagos marine iguanas (genus *Amblyrhynchus*). *Zoological Journal of the Linnean Society* 181: 678-710.
- Pereira AG, Sterli J, Moreira FR, Schrago CG. 2017. Multilocus phylogeny and statistical biogeography clarify the evolutionary history of major lineages of turtles. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 113: 59-66.
- Sorensen PW, Fine JM, Dvornikovs V, Jeffrey CS, Shao F, Wang J, Vrieze LA, Anderson KR, Hoye TR. 2005. Mixture of new sulfated steroids functions as a migratory pheromone in the sea lamprey. *Nature Chemical Biology* 1: 324-328.
- Symonds MR, Elgar MA. 2008. The evolution of pheromone diversity. *Trends in Ecology & Evolution* 23: 220-228.
- Weldon PJ, Flachsbarth B, Schulz S. 2008. Natural products from the integument of nonavian reptiles. *Natural Product Reports* 25: 738-756.
- Winokur RM, Legler JM. 1975. Chelonian mental glands. *Journal of Morphology* 147: 275-291.

Wyatt TD. 2014. Proteins and peptides as pheromone signals and chemical signatures. *Animal Behaviour* 97: 273-280.

5. ZNACZĄCE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE REALIZOWANE W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ INSTYTUCJI

Swoją karierę naukową realizowałem w trzech różnych krajach: Hiszpanii, Niemczech i Polsce. W maju 2014 roku obroniłem z wyróżnieniem rozprawę doktorską na Uniwersytecie Complutense w Madrycie, w Hiszpanii. Rozprawa nosiła tytuł „*Function of multiple signals in sexual selection and antipredator strategies in the Spanish terrapin, Mauremys leprosa*” i została następnie wyróżniona przez Uniwersytet nagrodą przyznawaną najlepszym rozprawom naukowym na uczelni (Premio Extraordinario de Doctorado).

W latach 2015-2017 otrzymałem finansowanie w ramach prestiżowego stypendium podoktorskiego Fundacji im. Alexandra von Humboldta na Uniwersytecie Technicznym w Brunszwiku (Niemcy) w celu zbadania roli sygnałów chemicznych w procesie specjacji legwanów morskich z Wysp Galapagos. Od marca 2018 roku prowadzę działalność naukową w Polsce, gdzie do tej pory uzyskałem dwa granty z Narodowego Centrum Nauki (NCN). W latach 2018-2022 byłem głównym badaczem grantu OPUS dotyczącego ewolucji komunikacji chemicznej u żółwi, realizowanego w Uniwersytecie Jagiellońskim. W 2021 roku uzyskałem grant SONATA na badanie wpływu bakterii na sygnalizację chemiczną u gadów (opis projektu znajduje się w rozdziale 7 pt. „Informacje dodatkowe”), który realizuję w Uniwersytecie Łódzkim.

W trakcie mojej kariery zawodowej pracowałem lub nawiązałem współpracę naukową z kilkoma grupami badawczymi w moim kraju ojczystym (Hiszpania), jak również za granicą. Niektóre z kluczowych instytucji, z którymi pracowałem lub współpracowałem w trakcie mojej kariery naukowej, to: Uniwersytet Techniczny w Brunszwiku (Niemcy), Muzeum Zoologiczne w Dreźnie (Niemcy), Narodowe Muzeum Historii Naturalnej w Madrycie (Hiszpania), Uniwersytet Estremadury w Badajoz (Hiszpania), Kataloński Ośrodek Rehabilitacji Gadów i Płazów CRARC w Masquefa (Hiszpania), Uniwersytet w Pawii (Włochy), Turtle Island w Grazu (Austria) oraz Uniwersytet Jagielloński w Krakowie (Polska).

6. OSIĄGNIĘCIA DYDAKTYCZNE I ORGANIZACYJNE, POPULARYZACJA NAUKI

Posiadam bogate doświadczenie w prowadzeniu prac terenowych, zdobyte w ramach realizacji własnych badań oraz kierowania zespołami terenowymi działającymi w różnych ekosystemach. Mam znaczne doświadczenie w organizowaniu i kierowaniu badaniami terenowymi w różnych regionach świata, w tym w jednym z najbardziej fascynujących naturalnych laboratoriów ewolucji, jakim są Wyspy Galapagos w Ekwadorze. Miałem okazję zorganizować i poprowadzić dwie ekspedycje terenowe na Wyspy Galapagos (w latach 2014-2016), gdzie ściśle współpracowałem z lokalnym personelem i naukowcami ze Stacji im. Karola Darwina i Parku Narodowego Wysp Galapagos.

Byłem współopiekunem trzech prac licencjackich i jednej magisterskiej, w wyniku czego powstały dwa artykuły (25, 27). Obecnie jestem głównym badaczem projektu SONATA (patrz niżej), w którym planuję zatrudnić i nadzorować doktoranta oraz kolejnego magistranta.

Wyniki moich badań były przez lata rozpowszechniane w różnych kanałach komunikacji, takich jak platformy mediów społecznościowych Facebook i Twitter oraz strony internetowe współpracujących instytucji zoologicznych i Ambasady Hiszpanii. Prowadzę również seminaria w innych instytucjach, aby promować swoje badania. W listopadzie 2021 roku zostałem zaproszony do wygłoszenia prelekcji na temat moich badań na Uniwersytecie Wrocławskim.

7. INFORMACJE DODATKOWE

Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Duża część moich badań przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora skupiała się na ocenie roli sygnałów chemicznych u żółwi hiszpańskich. Badania te dotyczyły wykorzystania sygnałów chemicznych w środowisku wodnym do interakcji wewnątrz- i międzypłciowych u tego gatunku. Żółwie mogą używać sygnałów chemicznych do poszukiwania bardziej pożądanych partnerów (1). Sygnały chemiczne uwalniane do wody mogą być również wykorzystywane przez samce żółwi do unikania antagonistycznych interakcji z innymi samcami (1, 2), a mechanizm ten może być zależny od stężenia chemosygnałów (7).

Innym badanym przeze mnie aspektem była potencjalna rola ubarwienia ciała w sygnalizacji wewnątrzgatunkowej u żółwi. Żółwie charakteryzują się bogatym ubarwieniem całego ciała, szczególnie zaś głowy, szyi i kończyn, które u niektórych gatunków różni się pomiędzy płciami (np.

3). Jego specyficzna funkcja pozostaje jak dotąd niejasna. Moje badania wykazały, że u samic żółwi hiszpańskich ubarwienie było skorelowane z wielkością ciała i odpowiedzią immunologiczną, co sugeruje, że może ono odgrywać ważną rolę w selekcji płciowej (3). Ponadto, eksperymenty z samicami żółwia czerwonoliciego (*Trachemys scripta elegans*) dowiodły istnienia kompromisu między funkcjonowaniem układu odpornościowego a ekspresją ornamentów wizualnych u żółwi (6).

Innym aspektem, który badałem, była zależność między zachowaniem związanym z unikaniem drapieżników a innymi cechami u żółwi. Stwierdziliśmy, że zachowanie antydrapieżnicze było związane z płcią, wielkością ciała i ubarwieniem osobnika (5). Ponadto, badałem również odpowiedź behawioralną salamandry plamistej na chemiczne sygnały wydzielane przez drapieżnika, wykazując istotny wpływ wieku na zdolność do jego rozpoznawania (4).

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Większość moich badań po uzyskaniu stopnia naukowego doktora skupiła się na badaniu systemów komunikacji u zwierząt. Ponadto interesują mnie również inne tematy, które obejmują molekularne wykrywanie pasożytów krwi oraz, szerzej, behavior, ekologię i ewolucję gadów.

Wykrywanie pasożytów we krwi

Opublikowałem trzy artykuły na temat hemopasożytów (tj. pasożytów krwi) u gadów. Na przykład, w badaniu opartym na 390 próbkach krwi legwanów morskich stwierdziliśmy, że 25% osobników było zarażonych pasożytami krwi, a analiza filogenetyczna wykazała występowanie u nich dwóch klastrow genetycznych należących do rodzajów *Hepatozoon* lub *Hemolivia* (27). W innym badaniu scharakteryzowaliśmy różnorodność genetyczną pasożytów *Hepatozoon* spp. u żółwi hiszpańskich, ujawniając ogólną prewalencję na poziomie 46,4% (16). Co ciekawe, stwierdziliśmy brak zarażenia hemopasożytami u amfisbeny *Trogonophis wiegmanni*, prawdopodobnie ze względu na jej szczególny, grzebiący tryb życia, który czyni ten gatunek mniej podatnym na zarażenia (13).

Różne badania dotyczące legwanów morskich z Wysp Galapagos

Podczas stażu podoktorskiego na Uniwersytecie Technicznym w Brunshwiku w Niemczech miałem okazję zaangażować się w kilka projektów związanych z legwanem morskim z Wysp Galapagos (patrz wyżej oraz 17, 18, 23). Po pierwsze, dzięki integracji zestawów danych genetycznych, filogenomicznych i morfologicznych opublikowaliśmy zaktualizowany przegląd taksonomiczny legwana morskiego (17). Badanie to doprowadziło do identyfikacji 11 podgatunków, w tym do opisanie pięciu nowych. W innej pracy ocenialiśmy wpływ zjawiska klimatycznego „El Niño” na mikrobiom jelitowy legwanów morskich (23). Nie stwierdziliśmy wpływu „El Niño” na mikrobiom jelitowy legwana morskiego, natomiast wykazaliśmy korelację między neutralną zmiennością genetyczną na poziomie populacji a strukturą mikrobiomu, co sugeruje, że populacje żywicieli o dużej różnorodności genetycznej mogą posiadać bardziej zróżnicowany mikrobiom jelitowy. Ponadto, zastosowaliśmy również podejście lipidomiczne, opisując struktury i główne klasy lipidów w gruczołach udowych legwana morskiego (18).

Ekologia behawioralna gadów

Ze względu na moje zainteresowanie behawiorem i komunikacją zwierząt, opublikowałem również kilka artykułów dotyczących tego aspektu oraz ekologii żółwi. Na przykład, badaliśmy reakcję młodych z gatunku terekaj wodnoślodowy (*Podocnemis unifilis*) na bodźce chemiczne pochodzące od innych osobników i stwierdziliśmy, że zwiększają one swoją aktywność, gdy są wystawione na działanie substancji chemicznych pochodzących od samic, co sugeruje rolę tych sygnałów w procesach komunikacji (8). Biorąc pod uwagę moje zainteresowanie ubarwieniem żółwi, postanowiłem zbadać możliwy związek między ubarwieniem, wiekiem lub wielkością i tempem wzrostu osobników na przykładzie europejskich żółwi błotnych (*Emys orbicularis*). Stwierdziliśmy, że szybko rosnące osobniki mogą pozwolić sobie na intensywne ubarwienie kończyn, co prawdopodobnie jest efektem ich diety – np. większego spożycia karotenoidów modulujących wzrost i ekspresję kolorów (14).

Po uzyskaniu stopnia doktora opublikowałam również kilka artykułów na temat zachowań antydrapieżniczych żółwi. Wraz ze współpracownikami badaliśmy związek między melanizmem a zachowaniem antydrapieżniczym polegającym na ukrywaniu się i stwierdziliśmy, że ciemniejsze żółwie hiszpańskie były bardziej skłonne do podejmowania ryzyka i eksploracji nowych środowisk (12). Innym ważnym aspektem wpływającym na zachowanie antydrapieżnicze był status rozrodczy samic, ponieważ samice ciężarne potrzebowały więcej czasu na ukrycie się i były bardziej ostrożne (9). Później wykazaliśmy, że niektóre elementy zachowania poszczególnych osobników podczas

ukrywania się przed drapieżnikami są wysoce powtarzalne i stałe w czasie, co sugeruje istnienie cech osobowości u żółwi wodnych (19). Prowadziłem również rozległe prace terenowe dotyczące wolno żyjących populacji żółwi, w szczególności w celu zrozumienia zależności między wygrzewaniem się a stanem zdrowia poszczególnych osobników (10).

Po doktoracie pracowałem również z obrączkowcem marokańskim na wyspach Chafarinas (hiszpańskie terytorium w Afryce Północnej) w ramach projektu badawczego, który doprowadził do publikacji dwóch artykułów – jeden z nich dotyczył pasożytów krwi (patrz wyżej), a drugi badał rozpoznawanie chemosensoryczne u tego gatunku. Wykazaliśmy, że obrączkowce marokańskie mogą wykorzystywać wskazówki chemiczne w swoim środowisku do wyboru optymalnego mikrosiedliska i unikania podłoża o wysokim zasoleniu (24).

W latach 2015-2022 udało mi się pozyskać około 570 000 EUR (ok. 2 650 000 PLN) na finansowanie moich badań. Obejmuje to prestiżowe stypendium podoktorskie Fundacji im. Alexandra von Humboldta oraz dwa granty NCN (OPUS i SONATA). Opublikowałem łącznie 26 artykułów indeksowanych na liście Journal Citation Reports (JCR), w tym 19 (73%) jako pierwszy autor. Moje badania zostały opublikowane w renomowanych czasopismach, w tym z listy Top 10% (Citescore 2021): *Molecular & Cellular Proteomics*, *Scientific Reports*, *Behavioral Ecology and Sociobiology* oraz *Zoological Journal of the Linnean Society*. Opublikowałem również rozdział w opracowaniu książkowym. Moje publikacje były cytowane łącznie 208 razy (174 bez autocytowań), a mój indeks Hirscha wynosi 9 według Scopus. Łączny Impact Factor dla wszystkich moich publikacji wynosi 65,405. Według listy MEiN opublikowanej w grudniu 2021 roku łączna liczba punktów dla wszystkich moich prac wynosi 2350. Moje badania były prezentowane łącznie na 12 krajowych i międzynarodowych kongresach i sympozjach, w tym 7 prezentacji ustnych wygłosiłem osobiście.

Jak wynika z mojej pracy doktorskiej, moją pierwotną specjalizacją jest ekologia behawioralna. W późniejszym okresie rozszerzyłem swoje zainteresowania o aktywne wykorzystanie chemii analitycznej i technik biochemicznych do identyfikacji i ilościowego oznaczania związków chemicznych pozyskiwanych z gruczołów u gadów. W ostatnich latach zaadoptowałem również metody filogenetyki porównawczej do modelowania ewolucji cech fenotypowych w filogenezach molekularnych. Metody te zastosowałem w niedawno zakończonym projekcie NCN OPUS w celu zbadania ewolucji komunikacji chemicznej u żółwi. Moje obecne zainteresowania skupiają się na zrozumieniu roli bakterii symbiotycznych w sygnalizacji chemicznej u gadów. To zagadnienie jest przedmiotem nowego projektu, w ramach którego staram się zrozumieć, jak bakterie symbiotyczne wpływają na produkcję feromonów w gruczołach udowych jaszczurek. Projekt ten

jest finansowany przez NCN (SONATA 17) i zajął pierwsze miejsce w panelu *biologii ewolucyjnej i środowiskowej* – NZ8 (<https://www.ncn.gov.pl/en/konkursy/wyniki/2022-05-23-opus22-sonata17>):

Rola bakterii symbiotycznych w komunikacji chemicznej u gadów (projekt finansowany przez NCN, call SONATA, lata 2022-2025)

Streszczenie

Organizmy zwierząt zasiedlone są przez rozliczne zespoły drobnoustrojów: bakterii, grzybów i pierwotniaków tworzących wspólnie tzw. mikrobiom gospodarza. Udowodniono, że bakterie symbiotyczne odgrywają istotną rolę w licznych procesach życiowych gospodarza. Choć nasza wiedza o roli mikrobiomu w funkcjonowaniu gospodarza szybko się poszerza, wciąż jeszcze wiele pozostało do odkrycia. Jednym z aspektów wymagających pogłębionych badań jest sposób, w jaki mikrobiom może wpływać na dobór płciowy u zwierząt.

Wiele gatunków jaszczurek posiada gruczoły udowe, które, jak wykazano, wydzielają bogatą mieszanę substancji chemicznych, w tym związki lotne, odgrywające kluczową rolę w doborze partnera. W tym projekcie wykorzystujemy gada z rodziny łuskonośnych – jaszczurkę zwinę (*Lacerta agilis*) – aby zrozumieć, jak symbiotyczne bakterie mogą pośredniczyć w wewnątrzgatunkowej komunikacji chemicznej u kręgowców. W ramach tego projektu badamy zespoły drobnoustrojów pobrane od jaszczurek obu płci, aby (zadanie 1) scharakteryzować bakterie symbiotyczne nieodłącznie związane z gruczołami udowymi. Kolejnym celem jest zbadanie dynamiki zespołów bakterii podczas cyklu rozrodczego jaszczurek (zadanie 2), aby zrozumieć, czy w gruczołach udowych istnieje stabilny, funkcjonalny mikrobiom bakteryjny oraz aby wskazać grupy bakterii, które są nadreprezentowane podczas sezonu godowego i mogą być istotne dla opartego na feromonach wyboru partnera. Planujemy odizolować również bakterie uzyskane z gruczołów udowych i zakładamy hodowle bakteryjne w laboratorium, aby (zadanie 3) scharakteryzować lotne związki organiczne uwalniane przez bakterie i sprawdzić, czy bardziej zróżnicowane mikrobiomy produkują bogatsze koktajle związków chemicznych. Planujemy zidentyfikować grupy funkcjonalne bakterii zaangażowane w szlaki metaboliczne związane z produkcją lotnych związków. Ostatnim celem badań jest empiryczne sprawdzenie, czy zapachy produkowane przez gruczołowe mikroby symbiotyczne pośredniczą w doborze partnera (zadanie 4). W tym celu mikrobiom gruczołu udowego niektórych samców jaszczurek zostanie zmieniony

przy użyciu antybiotyków. Następnie przeprowadzona zostanie próba biologiczna w niewoli, w której jaszczurki będą wystawione na działanie zapachu wytwarzanego przez dwie grupy samców (tj. jedną poddaną i drugą niepoddaną antybiotykoterapii), a ich zachowanie będzie poddane obserwacji i pomiarom.

Wykorzystujemy nowoczesne metody sekwencjonowania (*metabarcoding* i *shotgun metagenomics*) w pionierskiej próbie rozszyfrowania mikrobiomu gruczołów udowych. Spodziewamy się, że gruczoły udowe są siedliskiem odrębnego i zróżnicowanego mikrobiomu, w którym nadreprezentowane są bakterie beztlenowe i lipofilne, ze względu na wysoce hydrofobowe warunki panujące w gruczołach. Przewidujemy, że istnieje mikrobiom podstawowy, który jest stabilny przez cały sezon rozrodczy, co zapewnia produkcję feromonu. Ponadto, wykorzystywane są tradycyjne metody badawcze (hodowla bakterii) w połączeniu z chemią analityczną (SPME i GC/MS), w celu określenia profili lotnych izolatów bakteryjnych oraz zbadania interakcji pomiędzy bakteriami a składem substancji lotnych. Różnorodność bakterii powinna być związana z liczbą produkowanych związków lotnych, ze względu na większą liczbę genów kodowanych w bardziej zróżnicowanych mikrobiomach oraz powszechną (tj. o ok. 50-80%) zdolność bakterii do produkcji lotnych związków. Przewidujemy, że ilości niektórych związków lotnych powinny być ściśle związane z konkretnymi taksonami bakterii. Na przykład, produkcja kwasów tłuszczowych powinna być związana z obecnością fermentujących anaerobów.

W ostatniej ww. części projektu mikrobiom jaszczurek zostanie eksperymentalnie zmieniony, a następnie przeprowadzone zostaną testy behawioralne w celu sprawdzenia roli zapachów bakteryjnych w wyborze partnera. Spodziewamy się, że samice będą preferować bardziej samce, które nie były leczone antybiotykami w porównaniu do samców poddanych antybiotykoterapii, które nie będą w stanie produkować sygnałów chemicznych ze względu na obecność zaburzonego i zmienionego mikrobiomu bakteryjnego.

Projekt dostarczy nowych wyników na temat funkcjonowania mikrobiomu u zwierząt i odpowie na kluczowe pytanie, czy mikrobiom gospodarza determinuje dobór partnera oparty na feromonach. Po raz pierwszy zostanie scharakteryzowany mikrobiom gruczołów naskórkowych u gadów. Badania te są unikalne w tym sensie, że pozwolą zidentyfikować lotne związki produkowane przez bakterie i eksperymentalnie wykazać, czy zapachy bakteryjne odgrywają istotną rolę w doborze płciowym.

Podsumowanie naukometryczne dla osiągnięć naukowych przed doktoratem

Łączny 5-letni Impact Factor: 16,81

Sumaryczny Impact Factor (rok publikacji): 15,21

Łączna liczba punktów MEiN (lista opublikowana w 2021 roku): 620

Całkowita liczba cytowań według Scopus (21-03-2023): 114

Podsumowanie naukometryczne dla osiągnięć naukowych po doktoracie (bez osiągnięcia w pkt. 4)

Łączny 5-letni Impact Factor: 33,68

Sumaryczny Impact Factor (rok publikacji): 28,27

Łączna liczba punktów MEiN (lista opublikowana w 2021 roku): 1070

Całkowita liczba cytowań według Scopus (21-03-2023): 76

Podsumowanie naukometryczne dla wszystkich osiągnięć naukowych (w tym przed doktoratem i z osiągnięciem w pkt. 4)

Łączny 5-letni Impact Factor: 76,21

Sumaryczny Impact Factor (rok publikacji): 65,41

Łączna liczba punktów MEiN (lista opublikowana w 2021 roku): 2350

Całkowita liczba cytowań według Scopus (21-3-2023): 208

Całkowita liczba cytowań według Google Scholar (21-03-2023): 294

Liczba publikacji JCR: 26

h-index (21-03-2023): 9 / 11 (Scopus) / (Google Scholar)



.....
(podpis wnioskodawcy)