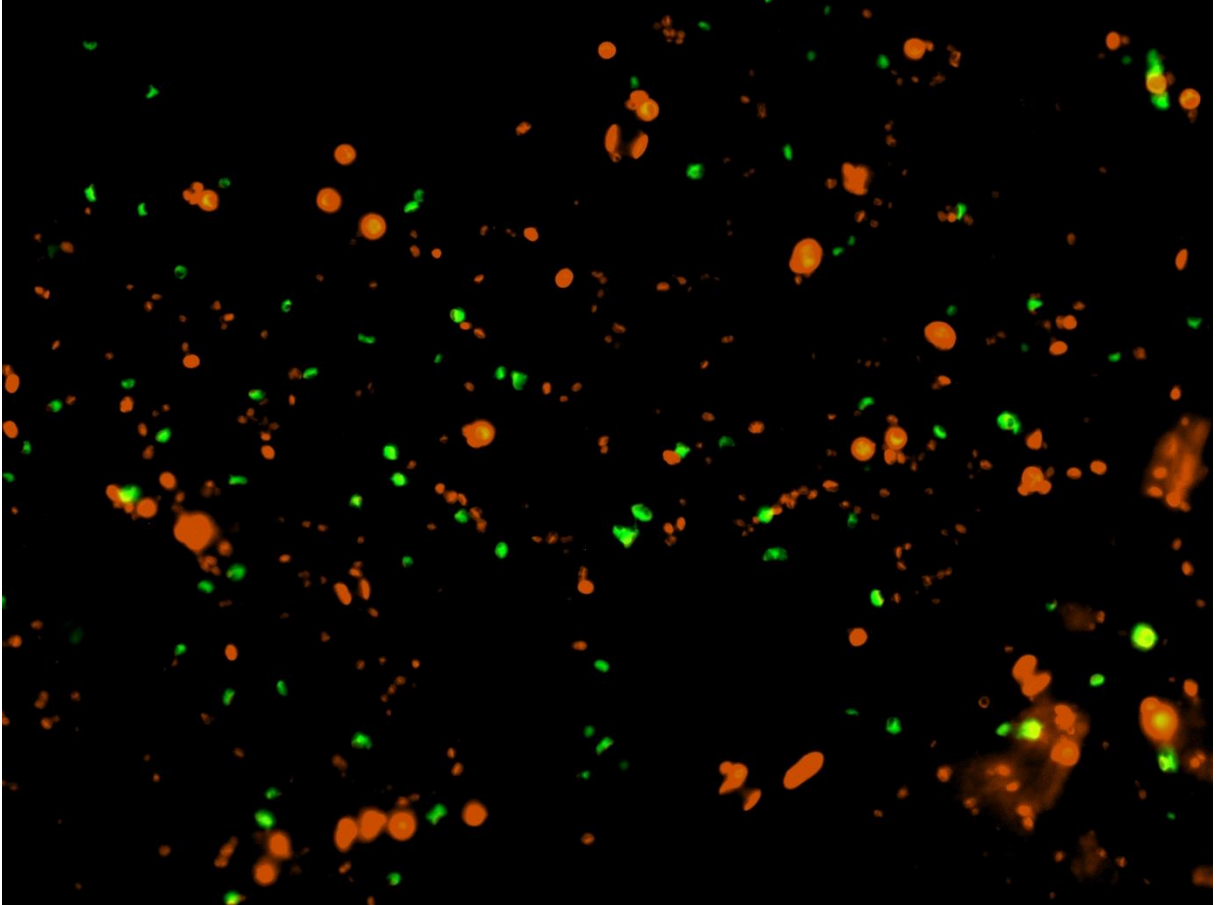


**Wpływ czynników środowiskowych na rozmieszczenie
i dynamikę pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych**



Dr Katarzyna Piwosz

Rozprawa habilitacyjna

Załącznik nr 3: Opis kariery naukowej

1. Imię i nazwisko.

Katarzyna Piwosz

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

18 czerwca 2004 roku – **magister Oceanografii** w zakresie Biologii Morza, Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii, Uniwersytet Gdański;

31 marca 2006 – **magister Mikrobiologii Morza**, Międzynarodowe Studia Magisterskie Mikrobiologii Morza (Marmic) przy Instytucie Mikrobiologii Morza im. Maxa Plancka, Uniwersytet w Bremie;

9 grudnia 2009 – **doktor Nauk o Ziemi** w zakresie Oceanologii, Instytut Oceanologii Polskiej Akademii Nauk w Sopocie. Rozprawa doktorska pt. *Diversity of bacterivorous nanoflagellates in the Gulf of Gdańsk during the summer season and their interactions with pelagic bacterial communities*. Opiekunowie naukowci: prof. Jakob Pernthaler (Uniwersytet w Zurychu), prof. dr hab. Jan Marcin Węsławski (Instytut Oceanologii PAN).

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

1 stycznia 2009 – 31 marca 2009: **Uniwersytet w Zurychu**, Stacja Limnologiczna Instytutu Biologii Roślin, Szwajcaria, **asystentka** (40% etatu);

8 czerwca 2009 – 31 grudnia 2009: **Instytut Oceanologii PAN**, Zakład Ekologii Morza, **asystentka** (100% etatu) w ramach projektu: *Climate effects on planktonic food quality and trophic transfer in Arctic Marginal Ice Zones* (178766/S30, Norwegian Research Council);

Od 1 lutego 2010: **Morski Instytut Rybacki – Państwowy Instytut Badawczy**, Zakład Oceanografii Rybackiej i Ekologii Morza:

- **starsza specjalistka** (50% etau, od 1 stycznia 2011 100 % etatu);
- **adiunktka** (od 6 czerwca 2011, 100% etatu);
- **zastępczyni kierowniczkii zakładu** od 1 września 2014 do 30 kwietnia 2015, rezygnacja ze stanowiska w związku z podjęciem pracy za granicą. Od 1 lutego 2015 umowa na czas nieokreślony, urlop bezpłatny na życzenie od 1 czerwca 2015 do 31 grudnia 2020.

Zatrudnienie w ramach projektów statutowych MIR-PIB: *Ekologia bentosu Zalewu Wiślanego* (projekt nr O-156) oraz *Współwystępowanie populacji słodkowodnych i morskich w Zalewie Wiślanym na przykładzie wybranych grup bakterii i wiciowców nanoplanktonowych* (projekt nr O-160); **kierowniczkii dwóch międzynarodowych projektów**: *CBOL: Sezonowe różnice w bioróżnorodności bakterii oraz pierwotniaków nano- i pikoplanktonowych z trzech stref estuarium Wisły* (MNiSW, projekt nr 795/N-CBOL/2010/0) i *DEMONA: Różnorodność i ekologia wiciowców mikstotroficznych w wodach Zatoki Gdańskiej* (Polsko-Szwajcarski Program Badawczy, projekt nr PSPB-036/2010) oraz projektu statutowego MIR-PIB *Zmiany u podstaw sieci troficznej*

w południowym Bałtyku pod wpływem czynników antropogenicznych: opracowanie istniejącej w MIR-PIB bazy danych produkcji pierwotnej, fitoplanktonu i bakterioplanktonu (projekt nr P9-2/15).

1 czerwca 2015 – 31 grudnia 2020: **Instytut Mikrobiologii Czeskiej Akademii Nauk**, Centrum Algatech, laboratorium fototrofów anoksygeniczných prof. Michala Koblížka (Laboratory of Anoxygenic Phototrophs), Czechy, **adiunktka** (100 % etatu) w ramach projektów: *How fast is microbial loop?* (Agencja Grantowa Republiki Czeskiej (GAČR) projekt nr 13-11281S), *PhotoGemm+*: *Phototrophic Gemmatimonadetes* (GAČR, projekt nr 19-28778X) oraz *ALGATECH plus* (Ministerstwo Szkolnictwa, Młodzieży i Sportu Republiki Czeskiej, projekt nr LO1416). **Kierowniczką projektów:** *Factors regulating the phototrophic activity of freshwater community of Betaproteobacteria* (GAČR, projekt nr 15-12197S) oraz *AAPs rule! Aerobic anoxygenic phototrophs: their role in carbon utilization under light in freshwater ecosystems* (GAČR, projekt nr 18-14095Y).

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy.

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

Wpływ czynników środowiskowych na rozmieszczenie i dynamikę pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych.

Osiągnięcie naukowe stanowi jednotematyczny cykl sześciu publikacji w uznanych międzynarodowych czasopismach naukowych indeksowanych przez Filadelfijski Instytut Informacji Naukowej (tzw. Lista Filadelfijska), których jestem zarówno pierwszą, jak i korespondencyjną autorką.

b) Wykaz publikacji składających się na osiągnięcie naukowe

1. **Piwosz K**, Wiktor JM, Niemi A, Tatarek A, Michel C. 2013. *Mesoscale distribution and functional diversity of picoeukaryotes in the first-year sea ice of the Canadian Arctic*. **The ISME Journal** 7 (8): 1461-1471

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przedstawieniu hipotezy badawczej i pomysłu badań, przygotowaniu wniosku o finansowanie badań do MNiSW (projekt nr 695/N-ARCTICNET/2010/0), przeprowadzeniu procedury hybrydyzacji metodą CARD-FISH oraz wykonaniu analiz mikroskopowych, których wyniki zostały zilustrowane na rycinach 3b i 4 oraz w tabeli 2, przeprowadzeniu analiz statystycznych, których wyniki zostały zilustrowane na rycinach 2 (test Manna-Whitneya) i 5 (nieparametryczne skalowanie wielowymiarowe: nMDS) oraz w tabeli 3 (korelacje Spearmana), interpretacji wyników, przygotowaniu rycin 2-5, przygotowaniu tabel 1-3, napisaniu manuskryptu oraz opracowaniu materiału dodatkowego dostępnego on-line (tabele S1-S2). Swój udział w powstanie pracy określam na 75%.

2. **Piwosz K**, Spich K, Calkiewicz J, Weydmann A, Kubiszyn A, Wiktor J. 2015. *Distribution of small phytoflagellates along an Arctic fjord transect*. **Environmental Microbiology** 17 (7): 2393-2406

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przedstawieniu hipotezy badawczej i pomysłu badań, przeprowadzeniu procedury hybrydyzacji metodą CARD-FISH, interpretacji wyników, przygotowaniu rycin 5-6, napisaniu manuskryptu, przygotowaniu tabel 1 i 2 oraz opracowaniu materiału dodatkowego dostępnego on-line (tabele S1-S3). Swój udział w powstanie pracy określam na 64%.

- 3. Piwosz K,** Kownacka J, Ameryk A, Zalewski M, Pernthaler J. 2016. *Phenology of cryptomonads and the CRY1 lineage in a coastal brackish lagoon (Vistula Lagoon, Baltic Sea)*. **Journal of Phycology** 52 (4): 626-637

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przedstawieniu hipotezy badawczej i pomysłu badań, uzyskaniu finansowania na przeprowadzenie badań od MNiSW (projekt nr 795/N-CBOL/2010/0) oraz z Polsko-Szwajcarskiego Programu Badawczego (projekt nr PSPB-036/2010), kierowaniu ww. projektami naukowymi, poborze prób, wykonaniu analizy filogenetycznej przedstawionej na ryc. 2, zaprojektowaniu nowej sondy oligonukleotydowej dla kryptofitów z grupy CRY1, przeprowadzeniu procedury hybrydyzacji metodą CARD-FISH i wykonaniu analiz mikroskopowych, których wyniki są zilustrowane na ryc. 3-6 oraz w tabeli 2, analizie statystycznej wyników zilustrowanych na ryc. 7 (analiza redundancji oparta na odległości: distance-based redundancy analysis: db-RDA), interpretacji wyników, przygotowaniu rycin 2-7, przygotowaniu tabel 1-2, napisaniu manuskryptu oraz opracowaniu materiału dodatkowego dostępnego on-line (ryciny S1-S2). Swój udział w powstanie pracy określam na 90%.

- 4. Piwosz K,** Całkiewicz J, Gołębiowski M, Creer S. 2018. *Diversity and community composition of pico- and nanoplanktonic protists in the Vistula River estuary (Gulf of Gdansk, Baltic Sea)*. **Estuarine Coastal and Shelf Science** 207: 242-249

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przedstawieniu hipotezy badawczej i pomysłu badań, uzyskaniu finansowania na przeprowadzenie badań od MNiSW (projekt nr 795/N-CBOL/2010/0) oraz z Polsko-Szwajcarskiego Programu Badawczego (projekt nr PSPB-036/2010), kierowaniu ww. projektami naukowymi, poborze prób, udziale w prowadzonych pracach molekularnych, opracowaniu wyników zilustrowanych na ryc. 3 i 4 oraz w tabeli 1, analizie statystycznej wyników (analiza głównych składowych: principal component analysis: PCA (rycina 2), db-RDA (rycina 5), test homogeniczności rozrzutu (test of homogeneity of dispersions: PERMDISP), permutacyjna analiza wariancji (PERMANOVA), korelacje Spearmana, test Mantela (tabele 2 i 3)), interpretacji wyników, przygotowaniu rycin 2-5, przygotowaniu tabel 1-3, napisaniu manuskryptu oraz opracowaniu materiału dodatkowego dostępnego on-line (Plik S2, tabele S1-S2). Swój udział w powstanie pracy określam na 63%.

- 5. Piwosz K.** 2019. *Weekly dynamics of abundance and size structure of specific nanophytoplankton lineages in coastal waters (Baltic Sea)*. **Limnology and Oceanography** 64 (5): 2172-2186

Jestem jedyną autorką tej pracy, w ramach której zbierałam próby, przeprowadziłam analizy molekularne, zaprojektowałam nowe sondy oligonukleotydowe dla rodzaju *Haptolina* (Haptophyta) oraz gatunków *Apedinella radians* i *Pseudopedinella elastica* (Pedinellids), przeprowadziłam procedury hybrydyzacji metodą CARD-FISH, wykonałam

analizy mikroskopowe, których wyniki są zilustrowane na ryc. 2-3, oraz analizy rozkładu wielkości na podstawie pomiarów 11 000 komórek, których wyniki są zilustrowane na ryc. 4-5, przeprowadziłam analizy statystyczne wyników zilustrowanych na ryc. 6 (db-RDA), zinterpretowałam wyniki, przygotowałam wszystkie ryciny i tabelę, napisałam manuskrypt oraz opracowałam materiał dodatkowy dostępny on-line (ryciny S1-S4, tabele S1-S2). Kierowałam też projektami, z których te badania były finansowane: projektem MNiSW nr 795/N-CBOL/2010/0 oraz projektem nr PSPB-036/2010 z Polsko-Szwajcarskiego Programu Badawczego. Bezpłatny dostęp do artykułu został opłacony z projektu ALGATECH plus (LO1416) finansowanego przez Ministerstwo Szkolnictwa, Młodzieży i Sportu Republiki Czeskiej, w którym byłam wykonawczynią.

6. **Piwosz K**, Shabarova T, Pernthaler J, Posch T, Šimek K, Porcal P, Salcher MM. 2020. *Bacterial and eukaryotic small-subunit amplicon data do not provide a quantitative picture of microbial communities, but they are reliable in the context of ecological interpretations*. **mSphere** 5: e00052-20

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przedstawieniu hipotezy badawczej oraz pomysłu badań, uzyskaniu finansowania od Agencji Grantowej Republiki Czeskiej (projekt nr 18-14095Y), kierowaniu tym projektem, zbiorze prób mikroorganizmów eukariotycznych, przeprowadzeniu procedury hybrydyzacji metodą CARD-FISH oraz wykonaniu analiz mikroskopowych których wyniki są zilustrowane na ryc. 1A-B i ryc. S1-S5 w materiale dodatkowym dostępnym on-line, analizie statystycznej wyników (regresja liniowa, korelacje Spearmana, analiz DistML: Distance-based Linear Models) zilustrowanych na ryc. 1C-D, 2C-D oraz w tabelach 1-3, interpretacji wyników, przygotowaniu wszystkich rycin, przygotowaniu tabel 1-3, napisaniu manuskryptu oraz opracowaniu materiału dodatkowego dostępnego on-line (ryc. S1-S8, tabele S1-S2). Swój udział w powstanie pracy określam na 60%.

Podsumowanie bibliometryczne:

Nr publikacji, skrócona nazwa wydawnictwa, rok wydania	Cytowania		IF	IF5	Punkty MNiSW
	WoK	Scopus			
1. ISME J, 2013	35	36	9,267	9,296	140
2. Environ Microbiol, 2015	14	10	5,932	6,288	140
3. J Phycol, 2016	8	8	2,608	2,809	100
4. Estuar Coast Shelf Sci, 2018	4	4	2,611	2,975	100
5. Limnol Oceanogr, 2019	2	2	3,778	4,278	140
6. mSphere, 2020	4	6	4,282	4,466	100
Suma	67	66	28,478	30,112	720

Liczba cytowań na podstawie baz danych Web of Knowledge (WoK) oraz Scopus z dnia 3 listopada 2020 r. Wartości Impact factor (IF) oraz pięcioletni IF (IF5) są podane dla roku ukazania się publikacji lub dla roku 2019 w przypadku publikacji z roku 2020. Punkty Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Punkty MNiSW) zostały podane według aktualnej listy na podstawie załącznika do komunikatu z dnia 31 lipca 2019 r.

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

Pierwotniaki planktonowe pełnią kluczową rolę w środowisku wodnym. Ich udział w całkowitej biomacie wszystkich organizmów żyjących w morzach i oceanach wynosi około 40% (Bar-On i in., 2018), a wkład fitoplanktonu do globalnej produkcji pierwotnej to w przybliżeniu 30% (Field i in., 1998; Armbrust i in., 2004). Jednokomórkowe glony stanowią podstawę sieci troficznych w ekosystemach pelagicznych. Wiązany przez nie węgiel albo jest konsumowany przez zooplankton i bezpośrednio przepływa na wyższe poziomy troficzne, albo jest uwalniany do toni wodnej jako rozpuszczona materia organiczna, warunkując produkcję bakteryjną (Azam i in., 1983; Pernthaler, 2005; Azam i Malfatti, 2007). Szacuje się, że nawet 40% produkcji pierwotnej może być konsumowane przez organizmy prokariotyczne (bakterie i archeony), stanowiąc w ten sposób podstawę mikrobiologicznych sieci troficznych (Fouilland i Mostajir, 2010). Bakterie są źródłem pokarmu dla małych (< 5 μm) miksotroficznych glonów oraz heterotroficznych pierwotniaków (Porter i in., 1985; Zubkov i Tarran, 2008; Šimek i in., 2014), które z kolei wyżerane są przez większe pierwotniaki (Piwosz i Pernthaler, 2011; Grujić i in., 2018; Šimek i in., 2020) i ostatecznie przez zooplankton, umożliwiając włączenie rozpuszczonej materii organicznej na wyższe poziomy troficzne (Azam i Malfatti, 2007). Jednym ze skutków globalnego ocieplenia klimatu jest zwiększenie udziału małych gatunków w zbiorowiskach fitoplanktonowych (Daufresne i in., 2009; Morán i in., 2010), co spowodowało spadek całkowitej biomasy fitoplanktonu w ciągu ostatniego stulecia (Boyce i in., 2010). Skutkuje to zmianami zarówno w makro- jak i mikrobiologicznych sieciach troficznych, a zatem w funkcjonowaniu całych ekosystemów wodnych.

Rozmiary komórek pierwotniaków planktonowych różnią się ponad tysiącrotnie: od mającej 0,8 μm zielenicy z rodzaju *Ostreococcus* (Mamiellophyceae) do mierzących nawet 1 mm promienic planktonowych (Radiolaria) (Dennett i in., 2002; Finkel i in., 2010; Biard i in., 2016). Wyróżnia się trzy frakcje wielkości: mikroplankton (> 20 μm), nanoplankton (2-20 μm) oraz pikoplankton (< 2 μm). Bioróżnorodność i ekologia największej frakcji, do której należą między innymi okrzemki, bruzdnice, orzęski i promienice, jest stosunkowo dobrze poznana. Grupy te mają cechy morfologiczne umożliwiające identyfikację do poziomu gatunku z użyciem mikroskopów świetlnych. Natomiast pierwotniaki piko- i nanoplanktonowe są znacznie słabiej zbadane, gdyż ich różnorodność morfologiczna jest mała, a komórki często ulegają zniekształceniu przy konserwacji próbek (Jeuck i in., 2017). Identyfikacja do poziomu gatunku wymaga zarówno obserwacji żywych osobników, jak i struktur komórkowych z wykorzystaniem mikroskopii elektronicznej (Novarino, 2012), co praktycznie uniemożliwia analizę licznych próbek na potrzeby badań ekologicznych. Dopiero rozwój metod molekularnych, takich jak klonowanie oraz sekwencjonowanie wyizolowanych bezpośrednio ze środowiska genów kodujących rRNA małej podjednostki rybosomalnej (18S rRNA), umożliwił studia nad różnorodnością pierwotniaków w środowisku wodnym i odkrycie nieznanymi wcześniej grup (Lopez-Garcia i in., 2001; Moon-van der Staay i in., 2001). Gwałtowny postęp technologii masowego sekwencjonowania amplikonów pozwolił na odczytanie kolejności nukleotydów milionów cząsteczek DNA. Zastosowanie tej metody do próbek środowiskowych zaowocowało

wykryciem obecności nawet bardzo rzadkich kładów filogenetycznych (zwanymi dalej kładami) pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych (de Vargas i in., 2015). Odkrycia te całkowicie przebudowały poglądy na bioróżnorodność filogenetyczną najmniejszych pierwotniaków, zmieniając nasze postrzeganie ewolucji eukariontów (Burki i in., 2020).

Nowoczesne metody sekwencjonowania nie pozwalają jednak na ilościowe analizy zbiorowisk mikrobiologicznych (Smith i in., 2017). Liczebność poszczególnych kładów pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych może być szacowana metodą CARD-FISH (catalysed reporter deposition – fluorescence *in situ* hybridization; Not i in., 2002; Pernthaler i in., 2004). Wykorzystuje ona specyficzne, oligonukleotydowe sondy DNA, które przyłączając się do cząsteczek rRNA w rybosomach umożliwiają wizualizację i identyfikację wybranych kładów pierwotniaków pod mikroskopem epifluorescencyjnym (Amann i Fuchs, 2008). Dzięki temu możliwe jest nie tylko oszacowanie ich liczebności (Lim i in., 1999), ale również rozmiarów komórek, biomasy oraz, na podstawie treści wakuoli pokarmowych, określenie roli troficznej (Piwosz i Pernthaler, 2010, 2011; Grujčić i in., 2018; Šimek i in., 2020). Jednakże pomimo ogromnego nagromadzenia informacji na temat różnorodności filogenetycznej pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych w ciągu ostatnich 20 lat, wiedza na temat rozmieszczenia i fenologii poszczególnych kładów, dynamiki zbiorowisk oraz warunkujących je czynników środowiskowych jest wciąż niewielka. Przyjmuje się, że podstawowe informacje na temat mikroplanktonu, takie jak cykliczne zmiany sezonowe, zależność od temperatury, zasolenia i biogenów, dotyczą również mniejszych frakcji, jednak badania weryfikujące te założenia są nieliczne. Dlatego też właśnie na tych zagadnieniach skupiono uwagę w omawianych poniżej publikacjach wchodzących w skład mojego osiągnięcia naukowego.

Podstawą niniejszej rozprawy habilitacyjnej jest cykl sześciu publikacji naukowych, które ukazały się w prestiżowych czasopismach międzynarodowych z tzw. Listy Filadelfijskiej, wymienionych w punkcie 4b. **Jej głównym celem było poznanie wpływu czynników środowiskowych na rozmieszczenie i dynamikę pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych.** Postawiono trzy hipotezy badawcze:

1. Czynniki środowiskowe mają istotny wpływ na rozmieszczenie i dynamikę całych zbiorowisk oraz poszczególnych kładów pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych;
2. Struktura przestrzenna zbiorowisk pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych wzdłuż gradientów środowiskowych warunkowana jest zarówno odpowiedzią poszczególnych kładów na zmiany czynników środowiskowych (species sorting), jak i masowego przemieszczania się osobników (mass effects);
3. Dynamika zbiorowisk pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych warunkowana jest zróżnicowaniem nisz ekologicznych poszczególnych gatunków oraz kładów i wynika z odpowiedzi na zmieniające się warunki środowiska.

Hipotezy te zweryfikowano w oparciu o badania terenowe w środowiskach wodnych o różnym zasoleniu: porach lodu morskiego, morzach polarnych, słonawych wodach Morza Bałtyckiego i Zalewu Wiślanego oraz w słodkowodnym środowisku rzek Wisły i Elblą, które ponadto dostarczyły nowej wiedzy na temat morfologii mało poznanych kładów pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych oraz ich potencjalnej roli troficznej. Opierały

się one na nowoczesnych metodach molekularnych (masowym sekwencjonowaniu amplikonów cząsteczek genów kodujących 18S rRNA, CARD-FISH) i miały charakter interdyscyplinarny, łącząc ekologię, filogenetykę oraz wielowymiarowe analizy statystyczne. Były one realizowane w ramach siedmiu projektów (w tym czterech międzynarodowych) finansowanych w drodze konkursów, których byłam wykonawczynią lub kierowniczką:

1. *KONGHAU: The Kongsfjord-Hausgarten transect case study: Impact of climate on Arctic marine community structures and food webs.* (2010) **Międzynarodowy projekt** 658/W-HAUSGARTEN/2010/0 finansowany przez MNiSW. Pełniona funkcja: **wykonawczyni**;
2. *ARCTICNET: Mezoskalowe rozmieszczenie sympagicznych i pelagicznych pierwotniaków w pokrywie lodowej wód Archipelagu kanadyjskiego.* (2010-2011) **Międzynarodowy projekt** 695/N-ARCTICNET/2010/0 finansowany przez MNiSW. Pełniona funkcja: **wykonawczyni**;
3. *Współwystępowanie populacji słodkowodnych i morskich w Zalewie Wiślanym na przykładzie wybranych grup bakterii i wiciowców nanoplanktonowych* (2011). Projekt statutowy MIR-PIB (nr O-160). Pełniona funkcja: **główna wykonawczyni**;
4. *CBOL: Sezonowe różnice w bioróżnorodności bakterii oraz pierwotniaków nano- i pikoplanktonowych z trzech stref estuarium Wisły* (2010-2014). **Międzynarodowy projekt** 795/N-CBOL/2010/0 finansowany przez MNiSW. Pełniona funkcja: **kierowniczka projektu**;
5. *DEMONA: Różnorodność i ekologia wiciowców miksotroficznych w wodach Zatoki Gdańskiej* (2012-2015). **Międzynarodowy projekt** PSPB-036/2010 współfinansowany przez Szwajcarię w ramach Polsko-Szwajcarskiego Programu Badawczego. Pełniona funkcja: **kierowniczka projektu**;
6. *Zmiany u podstaw sieci troficznej w południowym Bałtyku pod wpływem czynników antropogenicznych: opracowanie istniejącej w MIR-PIB bazy danych produkcji pierwotnej, fitoplanktonu i bakterioplanktonu* (2015). Projekt statutowy MIR-PIB nr P9-2/15. Funkcja: **kierowniczka projektu**;
7. *AAPs rule! Aerobic anoxygenic phototrophs: their role in carbon utilization under light in freshwater ecosystems* (2018-2020). **Projekt dla młodych naukowców** 18-14095Y finansowany przez Agencję Grantową Republiki Czeskiej. Pełniona funkcja: **kierowniczka projektu**.

W pierwszej z przedstawionych jako rozprawa habilitacyjna prac, opublikowanej w **The ISME Journal**, prestiżowym czasopiśmie Międzynarodowego Towarzystwa Ekologii Mikroorganizmów (International Society for Microbial Ecology; Piwosz i in. (2013) *Mesoscale distribution and functional diversity of picoeukaryotes in the first-year sea ice of the Canadian Arctic*. ISME J 7: 1461-1471), badałam wpływ czynników środowiskowych na rozmieszczenie pierwotniaków pikoplanktonowych w jednorocznym lodzie morskim Arktyki Kanadyjskiej. W związku z postępującym ociepleniem klimatu, ta forma lodu może być jedyną w ciągu najbliższych dwóch dekad (IPCC, 2014), co znacząco

wpływie na funkcjonowanie ekosystemów Arktycznych (Kedra i in., 2015). Badania zaprezentowane w tej pracy były pierwszymi, w których wykorzystano metodę CARD-FISH do oszacowania liczebności pierwotniaków w tym wyjątkowym siedlisku. Pozwoliło to wykazać, że jest ona o rząd wielkości większa niż wcześniej przypuszczano (Bachy i in., 2011). Ponadto po raz pierwszy stwierdzono występowanie w lodzie morskim pierwotniaków pikoplanktonowych, które prawdopodobnie wmarzają jesienią podczas tworzenia się lodu, podobnie jak to zaobserwowano dla frakcji mikroplanktonowej (Różańska i in., 2008). Dominującymi grupami okazały się być zielenice (Chlorophyta) oraz kryptofity (Cryptomonadales), stanowiące po około 30% całkowitej liczebności pierwotniaków pikoplanktonowych, nie zaś, jak wcześniej sądzono, haptofity (Haptophyta) (Alou-Font i in., 2013). Co więcej, najliczniejszą grupą haptofitów byli przedstawiciele rodziny Pavloales, stwierdzone po raz pierwszy w lodzie morskim. Wszystkie badane grupy glonów (wymienione wyżej oraz rodzina Bolidophyceae) okazały się być miksotroficzne i zawierały w wakuolach pokarmowych bakterie. Bakteriożerne wiciowce heterotroficzne były mniej liczne niż miksotroficzne. Po raz pierwszy stwierdzono występowanie w lodzie morskim wiciowców z kładów MAST-2 i MAST-6 (Stramenopiles). Wiciowce MAST-2 były o trzy rzędy wielkości liczniejsze niż w pelagialu, co sugeruje, iż lód morski może być ich preferowanym habitatem. Istotną obserwacją było również stwierdzenie dużej liczebności pasożytniczych pierwotniaków z rzędu Syndiniales (Dinoflagellata), co może świadczyć o znacznym wpływie pasożytnictwa na zbiorowiska glonów lodowych. Wyniki te jednoznacznie wskazują, że pierwotniaki pikoplanktonowe odgrywają istotną rolę i mają różnorodne funkcje troficzne w jednorocznym lodzie morskim. Analizy statystyczne wykazały, że czynniki abiotyczne (grubość pokrywy śniegowej) oraz biotyczne (stężenie chlorofilu *a*, liczebność innych grup) korelowały z liczebnością niektórych kładów, pozytywnie weryfikując pierwszą hipotezę niniejszej rozprawy habilitacyjnej oraz sugerując istnienie skomplikowanych zależności ekologicznych pomiędzy pierwotniakami pikoplanktonowymi w lodzie morskim.

Badania nad wpływem czynników środowiskowych na rozmieszczenie pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych w Arktyce kontynuowałam w wodach zachodniego Spitsbergenu. Było to również pierwsze zastosowanie metody CARD-FISH w tym rejonie. Wyniki zostały opublikowane w drugiej z przedstawionych jako rozprawa habilitacyjna prac, która ukazała się w **Environmental Microbiology**, prestiżowym czasopiśmie Towarzystwa Mikrobiologii Stosowanej (Society for Applied Microbiology; Piwosz i in., (2015) *Distribution of small phytoflagellates along an Arctic fjord transect*. EMI 17: 2393-2406). Celem badań było poznanie, jak zmienia się liczebność poszczególnych grup glonów o rozmiarach komórek poniżej 10 µm wzdłuż gradientu warunków środowiskowych od wód otwartego oceanu do wnętrza fiordu Kongsfjorden. Skupiono się na tych organizmach, ponieważ stanowią one tam ponad 95% liczebności i biomasy nanoplanktonu (Not i in., 2005; Iversen i Seuthe, 2011). Liczebności badanych glonów były największe na otwartym morzu, a ich udział w zbiorowiskach piko- i nanoplanktonowych zmalał od 65% na stacjach zewnętrznych do 40% wewnątrz fiordu. Chlorophyta były najliczniejsze. Drugą pod względem liczebności grupą były Haptophyta, zdominowane przez *Pheocystis* spp. (Prymnesiophyceae, Phaeocystales). Rodzaj ten ma dwie zasadnicze formy morfologiczne:

kolonijną, która często tworzy zakwity wiosną, oraz wolnożyjącego wiciowca. Występowanie tej drugiej formy jest mniej znane ze względu na trudności w oznaczaniu pod mikroskopem świetlnym (Rousseau i in., 2007). Wyniki przedstawione w tej pracy wykazały, że *Pheocystis* spp. jest dominującym haptofitem również latem. Co ciekawe, w równocześnie prowadzonych badaniach mikrofitoplanktonu z użyciem mikroskopu świetlnego rodzaj ten nie został odnotowany (Kubiszyn i in., 2014). Ponadto, zaobserwowano po raz pierwszy obecność rodziny Pavlovales w wodach zachodniego Spitsbergenu. Nowatorskie zastosowanie w badaniach fitoplanktonu metod klasteryzacji zbiorów rozmytych (fuzzy clustering) oraz analiza redundancji pozwoliły wykazać, że czynniki środowiskowe mają dominujący wpływ na liczebność badanych grup glonów w fiordzie, podczas gdy ich napływ wraz z wodami otwartego oceanu jest mniej istotny. Pozwoliło to pozytywnie zweryfikować pierwszą i drugą hipotezę niniejszej rozprawy habilitacyjnej. Gatunki oceaniczne wnoszone wraz z wodami Atlantyckimi kształtują skład zbiorowisk mikrofitoplanktonu w Kongsfjordzie (Hop i in., 2002; Wiktor i Wojciechowska, 2005), zatem wyniki tej pracy sugerują, że zbiorowiska piko- i nanoplanktonu inaczej reagują na zmiany czynników środowiskowych niż mikrofitoplankton. Jest to istotne, gdyż napływ ciepłych wód Atlantyckich w rejonu Zachodniego Spitsbergenu intensyfikuje się w wyniku ocieplenia klimatu (Walczowski i in., 2012).

Opisane powyżej badania dostarczyły dowodów na istotność wpływu czynników środowiskowych na rozmieszczenie pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych. Jednak, jak wykazałam jeszcze w swojej pracy doktorskiej (Piwosz, 2009; Piwosz i Pernthaler, 2010, Piwosz i Pernthaler, 2011), zmiany liczebności poszczególnych kładów mogą sięgać dwóch rzędów wielkości w ciągu tygodnia. Ze względu na małą dostępność rejonów polarnych poza okresem letnim, prowadzenie tam badań sezonowych jest trudne. Dlatego też, aby rozszerzyć wiedzę na temat wpływu czynników środowiskowych na fenologię piko- i nanoplanktonu, w swoich dalszych badaniach skupiłam się na wodach przybrzeżnych Morza Bałtyckiego. W pierwszej z prac z tego rejonu, a trzeciej wchodzącej w skład niniejszej rozprawy habilitacyjnej, badałam wpływ czynników środowiskowych na dynamikę i rozmieszczenie kryptofitów w Zalewie Wiślanym. Wyniki te zostały opublikowane w **Journal of Phycology**, flagowym czasopiśmie Amerykańskiego Towarzystwa Fykologicznego (Phycological Society of America; **Piwosz** i in. (2016) *Phenology of cryptomonads and the CRY1 lineage in a coastal brackish lagoon (Vistula Lagoon, Baltic Sea)*. J Phycol 52: 626-637). Skupiłam się na kryptofitach (rząd Cryptomonadales), których znaczenie w Zalewie Wiślanym jest udokumentowane (Dmitrieva i Semenova, 2012). Były to pierwsze badania z wykorzystaniem metody CARD-FISH w tych wodach. Kryptofity najliczniej występowały w ujściu rzeki Elbląg, osiągając najwyższą liczebność wiosną, podczas zakwitu mikrofitoplanktonu. Natomiast największy udział (ok. 40%) w liczebności nanofitoplanktonu miały latem w wodach o zasoleniu ok. 2. Porównanie wyników analizy CARD-FISH z mikroskopią świetlną wykazało, że ta druga metoda sugerowała dominację kryptofitów w nanofitoplanktonie, ponieważ ponad 10-krotnie nie doszacowała całkowitej liczebności pierwotniaków mniejszych niż 10 μm . Zastosowanie metody CARD-FISH pozwoliło ponadto zbadać liczebność różnych kładów kryptofitów. Rodziny Cryptomonadaceae i Pyrenomonadaceae

osiągnęły największą liczebność wiosną na stacji słodkowodnej, podczas gdy gatunek *Proteomonas sulcata* był najbardziej liczny w sierpniu na stacji słodkowodnej oraz jesienią na stacjach o zasoleniu 2-4. Te różnice świadczą o czasowym zróżnicowaniu nisz, co zostało również wsparte nieparametryczną analizą redundancji (dbRDA). Kluczowymi czynnikami wyjaśniającymi rozmieszczenie i dynamikę badanych kładów kryptofitów było zasolenie wody i stężenia nieorganicznych form azotu (azotanów, azotynów i amoniaku), co dostarczyło kolejnych dowodów potwierdzających pierwszą i trzecią hipotezę niniejszej rozprawy habilitacyjnej. Jednak najważniejszym, nieoczekiwanym, odkryciem podczas prowadzenia tych badań było stwierdzenie, że najliczniejszym kładem kryptofitów w Zalewie Wiślanym był znany tylko z sekwencji środowiskowych kład CRY1. Analiza filogenetyczna genu kodującego jądrowe 18S rRNA pozwoliła po raz pierwszy wykazać jego umiejscowienie wewnątrz kladu Cryptomonadales, jako kład siostrzany do gałęzi filogenetycznej tworzonej przez znane gatunki z rodziny Cryptophyceae, ze 100% wsparciem statystycznym. Umożliwiło to zaprojektowanie nowej, specyficznej sondy oligonukleotydowej, która następnie została zastosowana do oszacowania liczebności kladu CRY1 w Zalewie Wiślanym. Okazał się on najliczniejszym z kryptofitów, stanowiąc do 80% ich liczebności. Analizy morfologiczne prawie 1000 komórek zhybrydowanych nową sondą umożliwiły stwierdzenie, że ich średni rozmiar jest poniżej 4 μm . Co ważniejsze, niespodziewanie okazało się, że w przeciwieństwie do gatunków rodziny Cryptophyceae, kryptofity kladu CRY1 są heterotroficzne. Miało to duże znaczenia dla zrozumienia ewolucji eukariontów, gdyż dostarczyło dowodów przeciwko dyskutowanej w tamtym czasie hipotezie o wspólnych pochodzeniu Cryptista, Haptista oraz tzw. supergrupy SAR (Stramenopiles, Alveolata, Rhizaria) (Burki i in., 2012; Keeling, 2013; Petersen i in., 2014), która obecnie została odrzucona (Burki i in., 2020). Równie zaskakujące było odkrycie, że do 75% wszystkich kryptofitów o rozmiarach komórki poniżej 5 μm jest heterotroficznych (z czego kład CRY1 stanowił do 100%) i prawdopodobnie bakteriożernych, co zostało następnie potwierdzone w niezależnych badaniach (Grujčić i in., 2018; Šimek i in., 2020), zmieniając poglądy na rolę tych organizmów w ekosystemach wodnych.

Powyższe badania Zalewu Wiślanego wykazały istotny wpływ zasolenia na liczebność kryptofitów. Jednak ze względu na uwarunkowania polityczne próby zbierano tylko w polskiej części Zalewu, w wodach o zasoleniu mniejszym od 4. Aby dogłębniej zrozumieć wpływ czynników środowiskowych na zbiorowiska piko- i nanoplanktonu wzdłuż gradientu zasolenia typowego dla Morza Bałtyckiego (od 0 do 7), przeprowadzono całoroczne badania w wodach słodkich Wisły, przy jej ujściu (zasolenie ok. 3,5) oraz w Zatoce Gdańskiej (zasolenie > 7). Ich wyniki zostały opublikowane w uznanym czasopiśmie międzynarodowym **Estuarine, Coastal and Shelf Science** (Piwosz i in. (2018a) *Diversity and community composition of pico- and nanoplanktonic protists in the Vistula River estuary (Gulf of Gdansk, Baltic Sea)* ECSS 207: 242-249). Wykorzystano metodę masowego sekwencjonowania amplikonów (pirosekwencjonowanie) fragmentu V4 genu 18S rRNA bezpośrednio z metatranskryptomu. Pirosekwencjonowanie zostało obecnie zastąpione przez sekwencjonowanie na platformach Illumina, lecz w tamtym czasie pozwalało uzyskać znacznie dłuższe odczyty sekwencji genów, a dzięki temu lepszą

rozdzielczość taksonomiczną. Wykorzystanie metatranskryptomu zamiast metagenomu pozwoliło skupić się na kładach pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych aktywnych metabolicznie, wykluczając martwe organizmy naniesione biernie z wodami rzecznyymi do Zatoki Gdańskiej. Były to pierwsze takie badania w Zatoce Gdańskiej i wodach wiślanych. Pozwoliły one stwierdzić występowanie 1237 różnych pierwotniaków na poziomie podobieństwa sekwencji wynoszącym 97% (tzw. operacyjne jednostki taksonomiczne (operational taxonomic units, OTUs). Po raz pierwszy stwierdzono występowanie Amoebozoa i Apusomonadida w wodach Wisły, Pelagophyceae w wodach Zatoki Gdańskiej oraz Radiolaria (z klasy Acantharea) w Morzu Bałtyckim. Różnorodność filogenetyczna pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych w wodach Wisły, jej ujściu i w wodach Zatoki Gdańskiej była podobna we wszystkich porach roku, lecz wskaźniki równomierności Pielou i Shannona były najwyższe w Zatoce Gdańskiej. Okazało się, że wpływ Wisły ogranicza się do wód przybrzeżnych w jej ujściu. Jak wykazano przy użyciu analiz statystycznych (PERMANOVA), różnice w składzie zbiorowisk pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych na stacjach o zasoleniu 0 i 3,5 nie były istotne, a dominowały w nich okrzemki, Synurophyceae i kryptofity. Natomiast w wodach Zatoki Gdańskiej najwięcej sekwencji pochodziło od bruzdnic, Mamiellophyceae, Picozoa i *Telonemia*, a zbiorowiska różniły się istotnie od występujących w niższym zasoleniu. Analizy statystyczne (dbRDA) wykazały, że niezależnie od pory roku różnice w składzie zbiorowisk pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych można było wyjaśnić wpływem temperatury, zasolenia, stężeń biogenów oraz odległościami pomiędzy stacjami. Oznacza to, że są one kształtowane zarówno przez czynniki środowiskowe (species sorting), jak i w wyniku masowego przemieszczania się osobników (mass effects). W Zatoce Gdańskiej dominujący wpływ miały czynniki środowiskowe, podczas gdy w ujściu Wisły napływ osobników z wodami rzecznyymi. Wyniki te pozytywnie weryfikują drugą hipotezę postawioną w niniejszej rozprawie habilitacyjnej oraz pozwalają lepiej zrozumieć wpływ wód słodkich na zbiorowiska piko- i nanoplanktonu w słonawych wodach Morza Bałtyckiego, który w wyniku zmian klimatu będzie się nasilać (Kniebusch i in., 2019).

Jako, że najbardziej wrażliwe na czynniki środowiskowe okazały się być zbiorowiska pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych w słonawych wodach Zatoki Gdańskiej, w piątej pracy wchodzącej w skład niniejszej rozprawy habilitacyjnej skupiłam się na tym rejonie. Aby zrozumieć ich oddziaływanie zarówno na dynamikę zmian składu całych zbiorowisk, jak i liczebności poszczególnych kładów, w badaniach tych połączyłam metody masowego sekwencjonowania amplikonów oraz CARD-FISH. Wyniki zostały opublikowane w **Limnology and Oceanography** prestiżowym czasopiśmie Stowarzyszenia na rzecz Nauk Limnologicznych i Oceanograficznych (Association for the Sciences of Limnology and Oceanography (ASLO): **Piwosz (2019) Weekly dynamics of abundance and size structure of specific nanophytoplankton lineages in coastal waters (Baltic Sea)**. L&O 64: 2172-2186). Cotygodniowy pobór prób pozwolił na oszacowanie różnorodności filogenetycznej zbiorowisk piko- i nanoplanktonu Zatoki Gdańskiej na 945 fylotypów na poziomie podobieństwa sekwencji fragmentu V4 genu 18S rRNA 97% (OTUs), podczas gdy Hallfors (2004) podaje dla całego Bałtyku południowego niecałe 700 gatunków pierwotniaków planktonowych. Liczba ta jest również dwukrotnie

wyższa niż szacunki dla Zatoki Gdańskiej uzyskane na podstawie opisanych powyżej wyników z prób zbieranych raz na sezon. Dane z sekwencjonowania posłużyły do wytypowania 15 kładów będących następnie przedmiotem szczegółowych badań z użyciem metody CARD-FISH, w tym trzech, dla których zaprojektowałam nowe sondy oligonukleotydowe. Pozwoliło to potwierdzić wyniki przedstawione w pracy trzeciej i czwartej niniejszej rozprawy habilitacyjnej, o obecności Pelagophyceae w Zatoce Gdańskiej oraz znaczeniu kryptofitów z kladu CRY1 wiosną. Wszystkie badane grupy pierwotniaków wykazywały bardzo duże zmiany liczebności oraz biomasy w ciągu tygodnia, tworząc liczne krótkotrwałe maksima podczas sezonu badawczego. Z wykorzystaniem nowo zaprojektowanych sond dla rodzaju *Haptolina* (oraz sond dla rodzajów *Prymnesium* i *Chrysochromulina* opracowanych przez Simon i in. 1997; Haptophyta) oraz gatunków *Apedinella radians* i *Pseudopedinella elastica* (Pedinellales) wykazano, że najwyższe odnotowane liczebności Haptophyta i Pedinellales były spowodowane przez następujące po sobie maksima różnych, blisko spokrewnionych rodzajów lub gatunków, co sugeruje czasowy rozdział nisz ekologicznych pomiędzy nimi. Pomiarów rozmiarów komórek ujawniły znaczne zmiany w strukturze wielkościowej badanych frakcji planktonu. Jednak zróżnicowanie komórek malało wraz z poziomem taksonomicznym, a rodzaje i gatunki miały stałą wielkość. Świadczy to o tym, że obserwowane różnice w strukturze wielkościowej piko- i nanoplanktonu wynikały ze zmian w składzie zbiorowisk, a nie z odpowiedzi fizjologicznej badanych rodzajów i gatunków. Zastosowanie wielowymiarowej statystycznej analizy danych wskazało, że stężenia wszystkich biogenów (N, P i Si) najlepiej wyjaśniały dynamikę liczebności i biomasy, temperatura zmiany w strukturze wielkości, a stężenia fosforanów zmienność w stosunku powierzchni komórek do ich objętości, dostarczając kolejnych dowodów na potwierdzenie pierwszej hipotezy przedstawionej w niniejszej rozprawie habilitacyjnej. Te ogólne zależności były jednak różne dla poszczególnych kładów, wspierając hipotezę trzecią, o rozdziale czasowym nisz i wynikających z tego zmianach w liczebności.

Połączenie w wyżej opisanych badaniach masowego sekwencjonowania amplikonów genów 18S rRNA i CARD-FISH pozwoliło nie tylko dostarczyć nowych informacji o wpływie czynników środowiskowych na zbiorowiska i poszczególne klady pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych, ale stworzyło również wyjątkową możliwość bezpośredniego porównania wyników uzyskanych za pomocą tych dwóch metod molekularnych. Masowe sekwencjonowanie amplikonów pozwala uzyskać setki tysięcy, czy nawet miliony, odczytów z jednej próby i obecnie jest najczęściej stosowaną metodą w badaniach ekologii mikroorganizmów (de Vargas i in., 2015). Jednakże analizy z wykorzystaniem sztucznych zbiorowisk bakteryjnych o kontrolowanym składzie gatunkowym jednoznacznie wykazały, że udział procentowy sekwencji w bibliotekach nie odpowiada faktycznemu udziałowi organizmów w zbiorowisku (Smith i in., 2017), podczas gdy przy użyciu metody CARD-FISH możemy dokładnie oszacować liczebność badanych kładów (Piwosz i in., 2018b). Ponieważ wsparcie hipotezy drugiej przedstawionej w niniejszej rozprawie habilitacyjnej pochodzi głównie z badań z wykorzystaniem masowego sekwencjonowania amplikonów, postanowiono dokładniej zbadać to zagadnienie, aby zweryfikować poprawność wyciągniętych wniosków zawartych w publikacji czwartej. Wyniki tych analiz zostały

opublikowane w **mSphere**, uznanym czasopiśmie Amerykańskiego Towarzystwa Mikrobiologicznego (American Society for Microbiology; **Piwosz** i in. (2020) *Bacterial and eukaryotic small-subunit amplicon data do not provide a quantitative picture of microbial communities, but they are reliable in the context of ecological interpretations*. mSphere 5: e00052-20). Dzięki współpracy z naukowczyniami i naukowcami z Instytutu Hydrobiologii Czeskiej Akademii Nauk oraz Uniwersytetu w Zurychu możliwe było opracowanie największego z dotychczas opublikowanych zestawu danych zawierającego prawie 900 rekordów liczebności pierwotniaków i bakterii. Są to pierwsze tak szczegółowe badania porównujące obie metody z wykorzystaniem naturalnych zbiorowisk mikroorganizmów na podstawie prób środowiskowych. Podobne porównania dla pierwotniaków były wcześniej wykonywane, lecz opierały się one na analizie morfologicznej gatunków, dla większości których sekwencje genu kodującego 18S rRNA nie są jeszcze dostępne (Pitsch i in., 2019), podczas gdy CARD-FISH bazuje na sekwencji tych genów. Bezpośrednie porównanie względnej liczebności uzyskanej obiema metodami potwierdziło obserwacje z wykorzystaniem sztucznych zbiorowisk, że udziały procentowe uzyskane z masowego sekwencjonowania ampliconów nie odpowiadają rzeczywistym udziałom w próbach, w związku z czym nie powinno się ich wykorzystywać do szacowania liczebności poszczególnych kładów. Natomiast wnioski wyciągnięte z badań na poziomie całych zbiorowisk mikroorganizmów z zastosowaniem statystycznych analiz wielowymiarowych były zbieżne. Jakkolwiek praca ta nie testowała bezpośrednio hipotez badawczych, dostarczyła jednak dowodów nie tylko na poprawność wniosków przedstawionych w pracy czwartej niniejszej rozprawy habilitacyjnej (Piwosz i in., 2018a), ale również innych badań nad zbiorowiskami pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych, które obecnie w większości opierają się wyłącznie na metodach sekwencjonowania nowej generacji. O jej znaczeniu świadczy fakt, że od jej ukazania się w marcu 2020 roku została pobrana prawie 2 400 razy i zacytowana 6 razy.

Pierwotniaki piko- i nanoplanktonowe to dominująca pod względem liczebności i biomasy frakcja planktonu eukariotycznego (Massana, 2011). Wykazują się ogromną różnorodnością filogenetyczną (de Vargas i in., 2015), która przekłada się na zróżnicowaną rolę w ekosystemie i sieciach troficznych: od producentów pierwotnych, poprzez mikсотrofy i heterotrofy o różnorodnych preferencjach pokarmowych, po symbionty i pasożyty (Worden i in., 2015). Ich znaczenie wzrasta wraz z antropogenicznym ocieplaniem się klimatu (Daufresne i in., 2009; Morán i in., 2010), skutkując przebudową mikrobiologicznych sieci troficznych i zmieniając przepływy węgla przez ekosystemy wodne (Boyce i in., 2010). Dlatego też poznanie wpływu czynników środowiskowych na rozmieszczenie i dynamikę zbiorowisk piko- i nanoplanktonu oraz poszczególnych kładów jest kluczowe dla zrozumienia zachodzących oraz przyszłych zmian w ekosystemach. **Przedstawione w niniejszej rozprawie habilitacyjnej wyniki interdyscyplinarnych badań, w większości prowadzonych w zespołach międzynarodowych, były jednymi z pierwszych, jeśli nie pierwszymi, nad ekologią poszczególnych kładów pierwotniaków piko- i nanoplanktonowymi w badanych ekosystemach.** Pozwoliły one wykazać obecność nowych taksonów w tych środowiskach, oszacować ich liczebność i biomasę oraz zaproponować prawdopodobną rolę troficzną.

Ponadto doprowadziły do zaskakującego odkrycia heterotroficznych kryptofitów z kladu CRY1, co miało istotne znaczenie nie tylko dla zrozumienia ekologii piko- i nanoplanktonu, ale również ewolucji eukariontów. Wykorzystanie wielowymiarowych metod statystycznych do analizy danych pozwoliło wykazać, że rozmieszczenie przestrzenne, struktura i dynamika liczebności zarówno różnych kładów, jak i całych zbiorowisk pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych zależy zarówno od czynników środowiskowych, takich jak temperatura, zasolenie czy stężenia biogenów, jak i masowego przemieszczania się osobników, dostarczając dowodów wspierających hipotezy postawione w niniejszej rozprawie habilitacyjnej. Wyniki te zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych, wymienionych w punkcie 4b, oraz przedstawione na 10 międzynarodowych konferencjach naukowych, m.in. FEMS Congress of European Microbiologists, Symposium on Aquatic Microbial Ecology (SAME), International Congress of Protistology (ICOP), International Symposium on Microbial Ecology (ISME), European Phycological Congress czy EMBO|EMBL Symposium.

Jako badania podstawowe, wymienione prace nie miały na celu zaproponowania bezpośrednich zastosowań praktycznych, tym niemniej mogą one stanowić podstawę do dalszych analiz np. roli poszczególnych kładów w mikrobiologicznych sieciach troficznych, co potencjalnie może być zastosowane w rekultywacji zbiorników wodnych czy oczyszczalniach ścieków w celu eliminacji bakterii patogenicznych. Wyniki te stanowią też podstawę do dalszych badań terenowych i eksperymentalnych dotyczących zmian zachodzących w zbiorowiskach pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych pod wpływem czynników naturalnych i antropogenicznych, ich reakcji ekofizjologicznej na wzrost temperatury, eutrofizację i zanieczyszczenia, czy badań nad rolą poszczególnych kładów w sieciach troficznych, które mam nadzieję kontynuować wychowując kolejne pokolenia naukowców i naukowców jako samodzielna pracownica naukowa.

d) Cytowana literatura

- Alou-Font, Mundy, Roy, Gosselin, Agustí (2013) Snow cover affects ice algae pigment composition in the coastal Arctic Ocean during spring *Mar Ecol Prog Ser* 474: 89-104.
- Amann, Fuchs (2008) Single-cell identification in microbial communities by improved fluorescence in situ hybridization techniques. *Nat Rev Microbiol* 6: 339-48.
- Armbrust, Berges, Bowler, Green, Martinez, Putman, ..., Rokhsar (2004) The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: Ecology, evolution and metabolism. *Science* 306: 79-86.
- Azam, Malfatti (2007) Microbial structuring of marine ecosystems. *Nat Rev Microbiol* 5: 782-91.
- Azam, Fenchel, Field, Gray, Meyer-Reil, Thingsted (1983) The ecological role of water column microbes in the sea. *Mar Ecol Prog Ser* 10: 257-63.
- Bachy, Lopez-Garcia, Vereshchaka, Moreira (2011) Diversity and vertical distribution of microbial eukaryotes in the snow, sea ice and seawater near the North Pole at the end of the polar night. *Front Microbiol* 2: 106.
- Bar-On, Phillips, Milo (2018) The biomass distribution on Earth. *Proc Natl Acad Sci* 115: 6506-11.
- Biard, Stemmann, Picheral, Mayot, Vandromme, Hauss, ..., Not (2016) In situ imaging reveals the biomass of giant protists in the global ocean. *Nature* 532: 504-7.
- Boyce, Lewis, Worm (2010) Global phytoplankton decline over the past century. *Nature* 466: 591-6.

- Burki, Okamoto, Pombert, Keeling (2012) The evolutionary history of haptophytes and cryptophytes: Phylogenomic evidence for separate origins. *Proc Royal Soc B* 279: 2246-54.
- Burki, Roger, Brown, Simpson (2020) The new tree of eukaryotes. *Trends Ecol Evol* 35: 43-55.
- Daufresne, Lengfellner, Sommer (2009) Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. *Proc Natl Acad Sci* 106: 12788-93.
- de Vargas, Audic, Henry, Decelle, Mahe, Logares, ..., Tara Oceans (2015) Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean. *Science* 348: 1261605.
- Dennett, Caron, Michaels, Gallager, Davis (2002) Video plankton recorder reveals high abundances of colonial Radiolaria in surface waters of the central North Pacific. *J Plankton Res* 24: 797-805.
- Dmitrieva, Semenova (2012) Seasonal dynamics and trophic interactions of phytoplankton and zooplankton in the Vistula Lagoon of the Baltic Sea. *Oceanology* 52: 785-9.
- Field, J Behrenfeld, T Randerson, Falkowski (1998) Primary production of the biosphere: Integrating terrestrial and oceanic components. *Science* 281: 237-240.
- Finkel, Beardall, Flynn, Quigg, Rees, Raven (2010) Phytoplankton in a changing world: Cell size and elemental stoichiometry. *J Plankton Res* 32: 119-37.
- Fouilland, Mostajir (2010) Revisited phytoplanktonic carbon dependency of heterotrophic bacteria in freshwaters, transitional, coastal and oceanic waters. *FEMS Microbiol Ecol* 73: 419-29.
- Grujčić, Nuy, Salcher, Shabarova, Kasalicky, Boenigk, ..., Šimek (2018) Cryptophyta as major bacterivores in freshwater summer plankton. *ISME J* 12: 1668–81.
- Hallfors (2004) *Checklist of baltic sea phytoplankton species (including some heterotrophic protistan groups)*. Helsinki: Helsinki Commission.
- Hop, Pearson, Hegseth, Kovacs, WiTencke, Laamanen, ..., Gerland (2002) The marine ecosystem of Kongsfjorden, Svalbard. *Polar Res* 21: 167-208.
- IPCC (2014) *Climate change 2014: Synthesis report*. Pachauri, R., and Meyer, L. (eds). Geneva, Switzerland, p. 151.
- Iversen, Seuthe (2011) Seasonal microbial processes in a high-latitude fjord (Kongsfjorden, Svalbard): I. Heterotrophic bacteria, picoplankton and nanoflagellates. *Polar Biol* 34: 731-49.
- Jeuck, Nitsche, Wylezich, Wirth, Bergfeld, Brutscher, ..., Arndt (2017) A comparison of methods to analyze aquatic heterotrophic flagellates of different taxonomic groups. *Protist* 168: 375-91.
- Kedra, Moritz, Choy, David, Degen, Duerksen, ..., Weslawski (2015) Status and trends in the structure of arctic benthic food webs. *Polar Res* 34: 23775.
- Keeling (2013) The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution. *Annu Rev Plant Biol* 64: 583-607.
- Kniebusch, Meier, Radtke (2019) Changing salinity gradients in the Baltic Sea as a consequence of altered freshwater budgets. *Geophys Res Lett* 46: 9739-47.
- Kubiszyn, Piwosz, Wiktor, Wiktor (2014) The effect of inter-annual Atlantic water inflow variability on the planktonic protist community structure in the west Spitsbergen waters during the summer. *J Plankton Res* 36: 1190-203.
- Lim, Dennett, Caron (1999) The ecology of *Paraphysomonas imperforata* based on studies employing oligonucleotide probe identification in coastal water samples and enrichment cultures. *Limnol Oceanogr* 44: 37-51.
- Lopez-Garcia, Rodriguez-Valera, Pedros-Alio, Moreira (2001) Unexpected diversity of small eukaryotes in deep-sea antarctic plankton. *Nature* 409: 603-7.
- Massana (2011) Eukaryotic picoplankton in surface oceans. *Annu Rev Microbiol* 65: 91-110.

- Moon-van der Staay, De Wachter, Vaultot (2001) Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. *Nature* 409: 607-10.
- Morán, Lopez-Urrutia, Calvo-Diaz, Li (2010) Increasing importance of small phytoplankton in a warmer ocean. *Global Change Biol* 16: 1137-44.
- Not, Simon, Biegala, Vaultot (2002) Application of fluorescent in situ hybridization coupled with tyramide signal amplification (FISH-TSA) to assess eukaryotic picoplankton composition. *Aquat Microb Ecol* 28: 157-66.
- Not, Massana, Latasa, Marie, Colson, Eikrem, ..., Simon (2005) Late summer community composition and abundance of photosynthetic picoeukaryotes in Norwegian and Barents seas. *Limnol Oceanogr* 50: 1677-86.
- Novarino (2012) Cryptomonad taxonomy in the 21st century: The first 200 years.
- Pernthaler (2005) Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. *Nat Rev Microbiol* 3: 537-46.
- Pernthaler, Pernthaler, Amann (2004) Sensitive multi-color fluorescence in situ hybridization for the identification of environmental microorganisms. *Mol Microb Ecol Manual* 3: 711-26.
- Petersen, Ludewig, Michael, Bunk, Jarek, Baurain, Brinkmann (2014) *Chromera velia*, endosymbioses and the rhodoplex hypothesis-plastid evolution in cryptophytes, alveolates, stramenopiles, and haptophytes (CASH lineages). *Genome Biol Evol* 6: 666-84.
- Pitsch, Bruni, Forster, Qu, Sonntag, Stoeck, Posch (2019) Seasonality of planktonic freshwater ciliates: Are analyses based on V9 regions of the 18S rRNA gene correlated with morphospecies counts? *Front Microbiol* 10: 248.
- Piwosz (2009) Diversity of bacterivorous nanoflagellates in the Gulf of Gdansk during the summer seasons and their interactions with pelagic bacterial communities. PhD Dissertation, Institute of Oceanology Polish Academy of Sciences.
- Piwosz, Pernthaler (2010) Seasonal population dynamics and trophic role of planktonic nanoflagellates in coastal surface waters of the southern Baltic Sea. *Environ Microbiol* 12: 364-77.
- Piwosz, Pernthaler (2011) Enrichment of omnivorous cercozoan nanoflagellates from coastal Baltic Sea waters. *PLoS ONE* 6: e24415.
- Piwosz, Całkiewicz, Gołębiewski, Creer (2018a) Diversity and community composition of pico- and nanoplanktonic protists in the Vistula River estuary (Gulf of Gdańsk, Baltic Sea). *Estuar Coast Shelf Sci* 207: 242-9.
- Piwosz, Shabarova, Tomasch, Šimek, Kopejtko, Kahl, ..., Koblížek (2018b) Determining lineage-specific bacterial growth curves with a novel approach based on amplicon reads normalization using internal standard (ARNIS). *ISME J* 12: 2640-54.
- Porter, Sherr, Sherr, Pace, Sanders (1985) Protozoa in planktonic food webs. *J Protozool* 32: 409-15.
- Rousseau, Chrétiennot-Dinet, Jacobsen, Verity, Whipple (2007) The life cycle of *Phaeocystis*: State of knowledge and presumptive role in ecology. *Biogeochemistry* 83: 29-47.
- Róžańska, Poulin, Gosselin (2008) Protist entrapment in newly formed sea ice in the coastal Arctic Sea. *J Mar Syst* 74: 901.
- Šimek, Nedoma, Znachor, Kasalický, Jezbera, Horňák, Sed'a (2014) A finely tuned symphony of factors modulates the microbial food web of a freshwater reservoir in spring. *Limnol Oceanogr* 59: 1477-92.
- Šimek, Grujčić, Mukherjee, Vojtech, Nedoma, Posch, ..., Salcher (2020) Cascading effects in freshwater microbial food webs by predatory Cercozoa, Katablepharidacea and ciliates feeding on aplastidic bacterivorous cryptophytes. *FEMS Microbiol Ecol* 96: fiae121.

- Simon, Brenner, Edvardsen, Medlin (1997) The identification of *Chrysochromulina* and *Prymnesium* species (Haptophyta, Prymnesiophyceae) using fluorescent or chemiluminescent oligonucleotide probes: A means for improving studies on toxic algae. *Eur J Phycol* 32: 393-401.
- Smith, Kohli, Murray, Rhodes (2017) Assessment of the metabarcoding approach for community analysis of benthic-epiphytic dinoflagellates using mock communities. *N Z J Mar Freshwat Res* 51: 555-76.
- Walczowski, Piechura, Goszczko, Wieczorek (2012) Changes in Atlantic water properties: An important factor in the European Arctic marine climate. *ICES J Mar Sci* 69: 864-9.
- Wiktor, Wojciechowska (2005) Differences in taxonomic composition of summer phytoplankton in two fjords of west Spitsbergen, Svalbard. *Pol Pol Res* 26: 259-68.
- Worden, Follows, Giovannoni, Wilken, Zimmerman, Keeling (2015) Rethinking the marine carbon cycle: Factoring in the multifarious lifestyles of microbes. *Science* 347: 1257594.
- Zubkov, Tarran (2008) High bacterivory by the smallest phytoplankton in the North Atlantic Ocean. *Nature* 455: 224-7.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej.

Moja fascynacja pierwotniakami zaczęła się na trzecim roku studiów magisterskich na wydziale Biologii, Geografii i Oceanografii **Uniwersytetu Gdańskiego**, kiedy podjęłam współpracę naukową z dr Józefem Wiktorem z **Instytutu Oceanologii PAN (IO PAN)**. Był on opiekunem naukowym mojej pierwszej pracy magisterskiej pt. *Fitoplankton letni w wodach Zachodniego Spitsbergenu* (promotorem był prof. dr hab. Jan Marcin Węsławski). Będąc jeszcze na studiach wzięłam udział w trzech rejsach naukowych: jednym po Morzu Bałtyckim i dwóch na Spitsbergen. Wyniki badań do pracy magisterskiej zaprezentowałam na dwóch konferencjach naukowych. Zostały one opublikowane w Polish Polar Research (Wikor i **Wojciechowska**, 2005) i **Polar Biology (Piwosz i in., 2009)**. Artykuł w *Polar Biology* jest *trzecim najczęściej cytowanym z 2009 roku i w 1 % artykułów z najwyższą liczbą cytowań opublikowanych w tym czasopiśmie w ciągu ostatnich 15 lat*.

Podczas analiz mikroskopowych prób ze Spitsbergenu zaobserwowałam wysoką liczebność małych wiciowców, których nie byłam w stanie zidentyfikować. Dzięki studiom nad literaturą przedmiotu dowiedziałam się o znaczeniu mikroorganizmów w wodach morskich oraz metodach molekularnych używanych w badaniach ich ekologii. Aby pogłębić swoją wiedzę zostałam słuchaczką internetowego kursu Microbial Ecology oferowanego przez **Uniwersytet Umeå** oraz zapisałam się na kurs Mikrobiologii Ogólnej na kierunku Biologia. Ponadto, ukończywszy studia na Uniwersytecie Gdańskim, z sukcesem aplikowałam do prestiżowej **International Max Planck Research School for Marine Microbiology (Marmic) przy Instytucie im. Maxa Plancka w Bremie (Niemcy)**. Jednocześnie zostałam słuchaczką studium doktoranckiego przy IO PAN w Sopocie. Tematem mojej drugiej pracy magisterskiej, wykonanej w **Instytucie Badań Morskich i Polarnych im. Alfreda Wegenera (Alfred Wegener Institute Helmholtz Centre for Polar and Marine Research) w Bremerhaven** pod opieką dr Katji Metfies oraz prof. Lindy Medlin, była różnorodność filogenetyczna kryptofitów w Morzu Północnym na podstawie sekwencji genu 18S rRNA (Tytuł pracy: *Cryptophyceae diversity*

by sequencing 18S rDNA clone libraries). Recenzentem ocenionej celująco pracy był prof. Allan Cembella.

Ukończywszy studia w Bremie dyplomem magisterskim, podjęłam współpracę z prof. Jakobem Pernthalerem z **Uniwersytetu w Zurychu** w Szwajcarii. Dzięki temu mogłam kontynuować badania w interesującej mnie tematyce różnorodności wiciowców nanoplanktonowych w wodach morskich. Prof. Pernthaler był promotorem mojej pracy doktorskiej pt. *Diversity of bacterivorous nanoflagellates in the Gulf of Gdańsk during the summer season and their interactions with pelagic bacterial communities*. Pozostając słuchaczką studium doktoranckiego przy IO PAN w Sopocie, prawie 2 lata spędziłam na stażach w Stacji Limnologicznej Uniwersytetu w Zurychu. Moje badania oraz pobyty naukowe w Szwajcarii były finansowane z trzech stypendiów naukowych Szwajcarskiej Fundacji Hydrobiologicznej i Limnologicznej, stypendium naukowego Uniwersytetu w Zurychu oraz z własnego projektu badawczego z Komitetu Badań Naukowych, którego byłam kierowniczką. Ponadto, w roku 2009 zostałam zatrudniona na Uniwersytecie w Zurychu jako asystentka by dokończyć prace laboratoryjne. Podczas moich badań do doktoratu odkryłam w Zatoce Gdańskiej obecność pasożytniczych wiciowców z rzędu Syndiniales oraz heterotroficznych wiciowców z typu Cercozoa. Dzięki zaprojektowaniu nowych sond oligonukleotydowych i wykorzystaniu metody CARD-FISH jako pierwsza osoba na świecie obserwowałam pod mikroskopem wiciowce z kladu MAST-6 (Stramenopiles). Na podstawie obserwacji ich wakuoli pokarmowych stwierdziłam, że nie są one bakteriożerne, jak wówczas uważano, lecz wszystkożerne. Zastosowanie metody CARD-FISH pozwoliło również wykazać bardzo dużą dynamikę zmian liczebności badanych wiciowców nanoplanktonowych. Wyniki tych badań zostały przedstawione na czterech konferencjach naukowych (m. in. ASLO Aquatic Sciences Meeting oraz The International Council for the Exploration of the Sea Annual Science Conference: ICES ASC) oraz opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych: *Environmental Microbiology* (Piwosz i Pernthaler, 2010), *PlosOne* (Piwosz i Pernthaler, 2011) i *Limnology and Oceanography* (Piwosz i in., 2013). Pełna lista moich publikacji naukowych znajduje się punkcie 1 części II Wykazu osiągnięć naukowych.

Wyniki uzyskane podczas studiów magisterskich i doktoranckich stanowiły wstęp do badań przedstawionych w niniejszej rozprawie habilitacyjnej, szczegółowo opisanych w punkcie 4. Wysławszy rozprawę doktorską do recenzentów, podjęłam pracę w **Instytucie Oceanologii PAN** w Sopocie jako asystentka w projekcie *Climate effects on planktonic food quality and trophic transfer in Arctic Marginal Ice Zones* (Norwegian Research Council project no. 178766/S30). Zaangażowałam się również w przygotowanie dwóch wniosków na międzynarodowe projekty badawcze, w których byłam wykonawczynią. Badania pierwotniaków planktonowych w projekcie *KONGHAU: The Kongsfjord-Hausgarten transect case study: Impact of climate on Arctic marine community structures and food webs* (MNiSW, projekt nr 658/W-HAUSGARTEN/2010/0) zaowocowały publikacjami w prestiżowych czasopismach naukowych, których byłam współautorką: *Journal of Plankton Research* (Kubiszyn i in., 2014) oraz *Environmental Microbiology* (Piwosz i in., 2015). Natomiast w ramach projektu *ARCTICNET: Mezoskalowe rozmieszczenie sympagicznych i pelagicznych pierwotniaków w pokrywie lodowej wód*

Archipelagu Kanadyjskiego (MNiSW, projekt nr 695/N-ARCTICNET/2010/0) nawiązałam współpracę z **dr Christiną Michelle** i **dr Andream Niemi z Fisheries and Oceans Canada**. Współpraca ta zaowocowała publikacją w prestiżowym czasopiśmie *The ISME Journal* (Piwosz i in., 2013). Obie publikacje, w których jestem pierwszą autorką, wchodzi w skład niniejszej rozprawy habilitacyjnej (publikacje nr 1 i 2).

Po obronie doktoratu zostałam zatrudniona w **Morskim Instytucie Rybackim w Gdyni** (obecnie Morski Instytut Rybacki – Państwowy Instytut Badawczy: MIR-PIB), najpierw jako starsza specjalistka, a następnie na stanowisku adiunkta w Zakładzie Oceanografii Rybackiej i Ekologii Morza. Początkowo zaangażowałam się w prace nad fenologią kryptofitów w Zalewie Wiślanym, finansowane z projektu statutowego, której wyniki ukazały się w *Journal of Phycology* (Piwosz i in., 2016; publikacja nr 3 niniejszej rozprawy habilitacyjnej). W tym celu przystosowałam istniejące laboratorium i sprzęt do przeprowadzania hybrydyzacji metodą CARD-FISH. Uczestniczyłam też w badaniach bakterii planktonowych i bentosowych w Zalewie Wiślanym, których wyniki są obecnie w recenzji. Jednocześnie nawiązałam współpracę z **prof. Simonem Creer z Uniwersytetu w Bangor w Wielkiej Brytanii** oraz z **dr hab. Marcinem Gołębiewskim z Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu**. W ramach międzynarodowego projektu *CBOL: Sezonowe różnice w bioróżnorodności bakterii oraz pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych z trzech stref estuarium Wisły* (MNiSW projekt nr 795/N-CBOL/2010/0), którego byłam kierowniczką, prowadziliśmy badania zbiorowisk pelagicznych bakterii oraz pierwotniaków piko- i nanoplanktonowych w Zatoce Gdańskiej i estuarium Wisły. Najciekawszym odkryciem dotyczącym bakterii było wykazanie, że aczkolwiek skład ich zbiorowisk jest determinowany przez zasolenie i sezonowość, to niektóre populacje składają się z subpopulacji niosących różne warianty regionu 16S rRNA, specyficznych dla określonych warunków (temperatury i zasolenia) oraz, że przypadki przystosowania organizmów słodkowodnych do środowiska słonawowodnego są rzadkie, lecz częstsze niż przystosowania organizmów słonawowodnych do środowiska rzecznoego. Wyniki tych badań ukazały się w *Environmental Microbiology Reports* (Gołębiewski i in., 2017) i stanowiły część rozprawy habilitacyjnej dr hab. Marcina Gołębiewskiego. Rezultaty dotyczące zbiorowisk pierwotniaków są częścią niniejszej rozprawy habilitacyjnej (publikacja nr 4: Piwosz i in., 2018a; *Estuarine, Coastal and Shelf Science*). Ta międzynarodowa współpraca wprowadziła mnie w świat stosowania masowego sekwencjonowania amplikonów do analiz zbiorowisk mikroorganizmów w środowisku, co stanowi główną metodę w moich badaniach do dzisiaj.

Równolegle z opisanymi powyżej badaniami, kontynuowałam współpracę z **prof. Jakobem Pernthalerem z Uniwersytetu w Zurychu**. W ramach wspólnego projektu *DEMONA: Różnorodność i ekologia wiciowców miksotroficznych w wodach Zatoki Gdańskiej*, finansowanego z Polsko-Szwajcarskiego Programu Badawczego (projekt nr PSPB-036/2010), badaliśmy pierwotniaki piko- i nanoplanktonowe w Zatoce Gdańskiej. Projekt sfinansował również moje trzy pobyty naukowe na **Uniwersytecie w Zurychu** (razem 5 miesięcy). Wyniki badań ukazały się w *Limnology and Oceanography* (Piwosz, 2019; publikacja nr 5 niniejszej habilitacji) oraz *mSphere* (Piwosz i in., 2020; publikacja nr 6 niniejszej habilitacji). Pod koniec roku 2014 nawiązałam współpracę z **prof. Klaussem Jürgensem**

z Instytutu Badań Morza Bałtyckiego w Warnemünde (The Leibniz Institute for Baltic Sea Research Warnemünde: IOW) i przyjąłem zaproszenie na odbycie trzymiesięcznego stażu naukowego w jego grupie.

W roku 2015 zostałem zatrudniona na stanowisku naukowym w **Centrum ALGATECH Instytutu Mikrobiologii Czeskiej Akademii Nauk w Czechach**, w laboratorium fototrofów anoksygenicznym, kierowanym przez prof. Michala Koblížka. Moim głównym obszarem badawczym była ekologia i ekofizjologia tlenowych, anoksygenicznym bakterii fotosyntetycznych (aerobic anoxygenic phototrophic bacteria: AAP). Charakterystyczną cechą tej grupy jest ich fotoheterotroficzny metabolizm, tzn. że mogą one wytwarzać ATP z energii słonecznej absorbowanej przez cząsteczki bakteriochlorofilu, lecz nie wiążą dwutlenku węgla i potrzebują materii organicznej do budowy biomasy. Bakterie AAP nie są jednorodną grupą filogenetyczną. Najwięcej opisanych gatunków należy do klas Alphaproteobacteria i Gammaproteobacteria, ale znani są również przedstawiciele z Chloroflexota i Gemmatimonadota. W latach 2015-2017 współkierowałem projektem *Factors regulating the phototrophic activity of freshwater community of Betaproteobacteria* finansowanym przez Agencję Grantową Republiki Czeskiej (GAČR, projekt nr 15-12197S), realizowanym przy współpracy z **dr Vojtěchem Kasalickým z Instytutu Hydrobiologii Centrum Biologii Czeskiej Akademii Nauk**. Głównym celem projektu było poznanie warunków środowiskowych wpływających na ekspresję genów fotosyntetycznych i znaczenie fotoheterotroficznego metabolizmu u bakterii z rodzaju *Limnohabitans* (Burkholderiales, Gammaproteobacteria), które są ważnym składnikiem bakterioplanktonu w jeziorach. Dostępne w hodowli gatunki i szczepy tego rodzaju wykazywały wyłącznie metabolizm typowo heterotroficzny i dopiero sekwencjonowanie genomów ujawniło ich pełny potencjał metaboliczny. Moim głównym osiągnięciem było opisanie po raz pierwszy fotoheterotroficznego fenotypu gatunku *Limnohabitans planktonicus*. Ponadto opracowałem metodę hybrydyzacji FISH pozwalającą na zachowanie autofluorescencji bakteriochlorofilu, co umożliwia zidentyfikowanie aktywnych bakterii AAP w próbkach środowiskowych. Wyniki tych badań ukazały się w uznanym czasopiśmie Amerykańskiego Towarzystwa Mikrobiologii (ASM) *Applied and Environmental Microbiology* (Kasalický i in., 2018). Uczestniczyłem również w badaniach nad wpływem natężenia światła na procesy fotochemiczne i metabolizm fotoheterotroficzny u gatunków z innych grup taksonomicznych: *Dinoroseobacter shibae* (Rhodobacterales, Alphaproteobacteria), *Sphingomonas* sp. (Sphingomonadales, Alphaproteobacteria) oraz *Gemmatimonas phototrophica* (Gemmatimonadales, Gemmatimonadota). Dla *D. shibae* opracowane zostały modele zależności tempa asymilacji prostych związków organicznych od natężenia światła, opublikowane w *Environmental Microbiology* (Piwosz i in., 2018). Wyniki badań nad pozostałymi dwoma gatunkami są obecnie w recenzji.

Jednak podstawowym tematem moich badań w tym czasie była ekologia fotoheterotroficznych bakterii w jeziorach. W roku 2016 zapoczątkowałem regularny pobór prób z pobliskiego jeziora oligotroficznego oraz dostosowałem laboratoria do przeprowadzania hybrydyzacji metodą CARD-FISH i FISH oraz masowego sekwencjonowanie ampikonów. Badania te są od roku 2018 prowadzone w ramach

projektu *AAPs rule! Aerobic anoxygenic phototrophs: their role in carbon utilization under light in freshwater ecosystems* (GAČR, projekt nr 18-14095Y), którego jestem kierowniczką. Obecnie mój doktorant, mgr Cristian Villena-Aleman, analizuje czteroletnią serię próbek zbieranych co dwa tygodnie pod względem dynamiki zbiorowisk bakteryjnych oraz bakterii AAP za pomocą masowego sekwencjonowania amplikonów małej podjednostki rybosomalnej (16S rRNA) oraz genu markerowego bakterii AAP *pufM*, kodującego łańcuch M białka budulcowego centrum reakcji w fotosystemie. W ramach projektu zapoczątkowane zostały również badania nad udziałem metabolizmu fotoheterotroficznej bakterii AAP w ogólnej aktywności bakterioplanktonu. Dzięki nowatorskim pomiarom respiracji oraz produkcji bakterii w świetle podczerwonym, które jest wykorzystywane wyłącznie przez bakterie AAP, wykazałam, że udział fotoheterotrofii wynosi średnio 15% w skali roku (Piwosz i Villena-Aleman, w recenzji). Oznacza to, że obecnie respiracja mikrobiologiczna w jeziorach może być przeszacowana, co ma duże znaczenie dla zrozumienia obiegu węgla w ekosystemach wodnych. Kierowałam też pracami eksperymentalnymi nad wpływem światła na zbiorowiska bakterii. Badania te były prowadzone w międzynarodowej grupie 17 naukowców i naukowiec z całego świata w ramach dziesiątych warsztatów GAP (Group of Aquatic Primary Productivity). Stwierdzono, że aczkolwiek tempo produkcji pierwotnej reguluje aktywność metaboliczną bakterii, to jego gwałtowny spadek nie powoduje zmian w zbiorowiskach bakterii. Ich skład natomiast jest kształtowany przez natężenie światła, które bezpośrednio stymulowało wzrost bakterii AAP. Wyniki tych badań ukazały się w czasopiśmie *mSphere* (Piwosz i in., 2020b). Ta międzynarodowa współpraca będzie kontynuowana w roku 2021 w ramach kierowanego przeze mnie projektu pt: „*INNPP: Effect of decreasing inorganic N:P ratio on the plankton community*”, finansowanego z europejskiego programu AQUACOSM.

Ponadto opracowałam metodę normalizacji wyników uzyskanych z masowego sekwencjonowania amplikonów z wykorzystaniem standardów wewnętrznych (ARNIS: amplicon reads normalization using internal standard). Głównym celem tych badań było uzyskanie metody pozwalających na oszacowanie tempa wzrostu bakterii wykrytych podczas sekwencjonowania. Wyniki uzyskane metodami ARNIS i CARD-FISH były zbliżone, co pozwoliło oszacować tempo wzrostu dla setek fylotypów bakterii. Wyniki te zostały opublikowane w prestiżowym czasopiśmie *The ISME Journal* (Piwosz i in., 2018b). Były one również inspiracją dla bardziej dokładnych badań porównawczych stanowiących część niniejszej rozprawy habilitacyjnej (Piwosz i in., 2020, publikacja nr 6). Przeprowadzone zostały także kolejne eksperymenty wykorzystujące ARNIS, których wyniki są obecnie opracowywane. Zaangażowałam się ponadto w inne badania prowadzone w laboratorium: nad ekspresją genu *pufM* przez naturalne zbiorowiska AAP w jeziorach (Fecskeová i in., 2019), badania metagenomowe nad ekologią bakterii z typu Gemmatimonadota (Mujakić i in., w recenzji), czy badania nad różnorodnością filogenetyczną bakterioplanktonu w Morzu Adriatyckim (we współpracy z naukowczyniami z Instytutu Oceanografii i Rybactwa w Splicie (Šantić i in., w recenzji). Jestem zaangażowana również w badania nad regulacją ekspresji genów fotosyntetycznych i nitrogenazy u diazotroficznej sinicy z rodzaju *Trichodesmium* w projekcie kierowanym

przez dr Meri Eichner (Projekt GAČR nr 20-02827Y *Single-cell orchestration of nitrogen fixation and photosynthesis in Trichodesmium*).

Wyniki opisanych powyżej badań zostały opublikowane w czasopismach naukowych oraz zaprezentowane na **32 konferencjach (26 międzynarodowych)**, w tym na prestiżowych takich jak *ASLO Aquatic Sciences Meeting, FEMS Congress of European Microbiologists, SAME: Symposium on Aquatic Microbial Ecology, ICOP The International Congress of Protistology*, czy *ISME International Symposium on Microbial Ecology*. Byłam współautorką 46 wystąpień (36 wystąpień jako pierwsza autorka), w tym 23 referatów, z których 19 prezentowałam osobiście. Ponadto zostałam zaproszona do wygłoszenia *3 referatów otwierających sesje naukowe i 1 wykładu plenarnego zamykającego konferencję*. Pełna lista moich wystąpień konferencyjnych znajduje się punkcie 2 części II Wykazu osiągnięć naukowych.

Moja działalność naukowa w dziedzinie ekologii mikroorganizmów została doceniona na arenie międzynarodowej. W roku 2015 zostałam zaproszona **do grupy eksperckiej opracowującej i testującej indykatory stanu środowiska Morza Bałtyckiego na podstawie zbiorowisk fitoplanktonowych na potrzeby Komisji Helsińskiej (HELCOM)** (w związku z wyjazdem na staż zagraniczny do Czech w połowie roku 2015 złożyłam rezygnację). W roku 2017 objęłam funkcję **Ambasadorki ISME** (International Society of Microbial Ecology, wydawca prestiżowego czasopisma *The ISME Journal*) na Polskę. Ambasadorzy ISME są zapraszani do pełnienia tej funkcji przez prezesa towarzystwa, a ich misją jest wspieranie wydarzeń naukowych związanych z ekologią mikroorganizmów oraz promowanie Towarzystwa. W ramach swojej działalności uzyskałam wsparcie finansowe w kwocie po 500 euro dla pięciu konferencji naukowych odbywających się w Polsce. Ponadto pomagałam uzyskać Polskiemu Towarzystwu Mikrobiologów 5 000 euro na organizację XXIX Ogólnopolskiego Zjazdu PTM, planowanego na wrzesień 2021 roku. **W roku 2020 moja działalność została wyróżniona i otrzymałam przyznaną raz na dwa lata nagrodę The ISME Ambassador of the Year.**

Byłam również wielokrotnie zapraszana do recenzowania artykułów naukowych. Dotychczas napisałam **46 recenzji 37 prac naukowych dla 23 międzynarodowych czasopism** w tym dla uznanych i prestiżowych czasopism z zakresu ekologii mikroorganizmów i ogólnych nauk biologicznych, m. in: *The ISME Journal, Environmental Microbiology, FEMS Microbial Ecology, Microbial Ecology, Current Biology* (pełna lista czasopism wymieniona jest w punkcie 8 części II Wykazu osiągnięć naukowych). Ponadto byłam **recenzentką pracy doktorskiej** Mikela Aguirrept. „Unraveling bacterioplanktonic ecology of the estuaries of Urdaibai and Bilbao in the Bay of Biscay by high-throughput sequencing” z Uniwersytetu Kraju Basków (Universidad del País Vasco).

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę.

Moje dotychczasowe zatrudnienie przebiegało prawie wyłącznie w instytutach naukowych nie prowadzących działalności dydaktycznej, dlatego też moje osiągnięcia w tym zakresie siłą rzeczy są skromniejsze niż naukowców pracujących na uniwersytetach.

Tym niemniej, w miarę możliwości prezentowałam na zaproszenie **wyklady na temat ekologii mikroorganizmów w wodach morskich dla uczestniczek i uczestników studiów magisterskich i doktoranckich Trójmiejskich uczelni i instytutów**: Instytutu Oceanologii PAN w Sopocie, Akademii Marynarki Wojennej, Politechniki Gdańskiej, Uniwersytetu Gdańskiego oraz **uczestników szkoły letniej** prowadzonej przez Centrum ALGATECH. Asystowałam również dr Dai Long Vu w kursie statystycznym w programie R przygotowanym dla pracowników Centrum Algatech. Ponadto opiekowałam się studentkami Oceanografii Uniwersytetu Gdańskiego odbywającymi staż w MIR-PIB, paniami: Natalią Szymańską i Natalią Czerniawską, oraz studentem Biologii Molekularnej i Biochemii Organizmów Uniwersytetu Karola w Pradze: panem Adamem Hanzlíkiem, odbywającym staż w Centrum Algatech. Obecnie jestem **promotorką pomocniczą pracy doktorskiej** mgr Izabeli Mujakić (opiekunem naukowym jest prof. Michal Koblížek), słuchaczki czwartego roku studiów doktoranckich na Uniwersytecie Południowo-Czeskim w Czeskich Budziejowicach (tytuł pracy doktorskiej: Ecology of Gemmatimonadetes) oraz **opiekunką naukową** mgr Cristiana Villena-Alemany, słuchacza drugiego roku tegoż studium i stypendysty programu unijnego Erasmus+ (tytuł pracy doktorskiej: Ecology of aerobic anoxygenic photoheterotrophic bacteria in freshwaters).

Moje osiągnięcia organizacyjne obejmują zarówno udział w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji, jak i zaangażowanie w funkcjonowanie Towarzystw Naukowych. Byłam **organizatorką sympozjum** pt. “*Microbes in the Baltic: Small things, small sea, big questions*”, które odbyło się w listopadzie 2014 r. w Gdyni. Udział w nim wzięło ponad 50 naukowców zajmujących się mikrobiologią Morza Bałtyckiego ze wszystkich krajów nadbałtyckich oraz Szwajcarii, a wykłady plenarne były wygłoszone przez naukowców o światowej renomie: prof. Lasse Riemann z Uniwersytetu w Kopenhadze, prof. Jakoba Pernthaler z Uniwersytetu w Zurychu, prof. Veljo Kisand z Instytutu Technologii Uniwersytetu w Tartu, prof. Klaus Jürgensa z Instytutu Badań Morza Bałtyckiego w Warnemünde oraz prof. Bärbel Müller-Karulis z Baltic Sea Center Uniwersytetu w Sztokholmie. Ponadto byłam **członkinią komitetu lokalnego** 10-tych warsztatów GAP (Group of Aquatic Primary Productivity) oraz członkinią komitetów konkursowych przyznających nagrody młodym naukowczyniom i naukowcom podczas trzech konferencji: SEFS10 Symposium for European Freshwater Sciences (rok 2017, Ołomuniec, Czechy), 37th International Conference of the Polish Phycological Society (rok 2018, Kraków) oraz Interdyscyplinarnej Akademickiej Konferencji Ochrony Środowiska (rok 2019, Gdańsk, Polska). Zasiadałam również w **komitecie naukowym** ostatniej z powyższych konferencji. Obecnie jestem **członkinią komitetu organizacyjnego** XI Ogólnopolskiej Konferencji Hydromikrobiologicznej HYDROMIKRO2021, która odbędzie się w przyszłym roku w Sopocie. Byłam **członkinią komitetu założycielskiego** Sopockiego Towarzystwa Naukowego i jego **skarbniczką** w latach 2007-2010, a obecnie wraz z młodszym ambasadorem ISME dr hab. Robertem Czajkowskim z Uniwersytetu Gdańskiego pracujemy nad założeniem Polskiego Towarzystwa Ekologii Mikroorganizmów. Ponadto jestem lub byłam członkinią innych polskich i zagranicznych towarzystw naukowych: International Society for Microbial Ecology, British Phycological Society, American Society for Microbiology, Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów.

Podjęmowałam także działalność popularyzującą naukę. W roku 2008 napisałam do miesięcznika „Żagle” artykuł o glonach porastających jachty pt. „Co na burcie piszczy”. Dwukrotnie brałam udział w *Bałtyckim Pikniku Naukowym*, gdzie prezentowałam glony żyjące w Morzu Bałtyckim. Obecnie pracuję nad albumem o pierwotniakach żyjących w Bałtyku, przygotowywanym z okazji 100-lecia Morskiego Instytutu Rybackiego - PIB.

7. Inne informacje dotyczące kariery zawodowej.

Wieloletnie doświadczenie w stosowaniu metod biologii molekularnej pozwoliło mi zaangażować się w pomoc przy diagnozie pacjentów zarażonych wirusem SARS-CoV-2 podczas pandemii COVID-19 w pierwszej połowie 2020 roku. Centrum Algotech Instytutu Mikrobiologii Czeskiej Akademii Nauk analizowało próbki dla szpitala w czeskim mieście Jindřichův Hradec. Byłam odpowiedzialna za interpretację wyników RT-qPCR oraz raportowanie diagnozy do dyrektora instytutu. W sumie w okresie od początku kwietnia do końca maja przebadano prawie 1 900 próbek.

8. Podsumowanie

W skład mojego dorobku naukowego wchodzi **25** oryginalnych prac naukowych w języku angielskim (z czego **23** po uzyskaniu stopnia naukowego doktora), opublikowanych w czasopismach indeksowanych przez Filadelfijski Instytut Informacji Naukowej, w większości powstałych w ramach współpracy międzynarodowej. Jestem **pierwszą autorką 15** prac (w tym **9 również korespondencyjną**). Sumaryczny Impact Factor powyższych publikacji, według listy Journal Citation Reports zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **88,100**, a z 5-cio letnich okresów obejmujących rok wydania publikacji: **95,994**. Sumaryczna liczba punktów zgodnie z wytycznymi Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na podstawie aktualnej listy z dnia 31 lipca 2019 r. wymienionych publikacji wynosi: **2 430**. Moje prace były cytowane **372** razy (317 bez autocytowań) według bazy Web of Knowledge oraz **405** razy (359 bez autocytowań) według bazy Scopus (dane na dzień 3 listopada 2020 r.). **Mój indeks Hirsha wynosi 10**. Wyniki swoich badań prezentowałam na licznych konferencjach naukowych, będąc autorką lub współautorką 46 referatów i posterów, w tym 4 wykładów na zaproszenie.

Byłam kierowniczką sześciu projektów naukowych, w tym czterech międzynarodowych (całkowita kwota uzyskanego przeze mnie finansowania wynosi około **4 000 000 zł**) oraz wykonawczynią lub główną wykonawczynią w kolejnych 12. Jestem laureatką kilkunastu nagród i stypendiów naukowych, m.in. dwóch stypendiów Europejskiego Laboratorium Biologii Molekularnej EMBL Advanced Training Centre Corporate Partnership Programme Fellowship, Federation of European Microbiological Societies (FEMS) Travel Award i nagrody International Society of Microbial Ecology dla najlepszej Ambasadorki roku 2019-2020. Zostałam pięciokrotnie wyróżniona za działalność publikacyjną przez Dyrektora Morskiego Instytutu Rybackiego – Państwowego Instytutu Badawczego.



.....
podpis wnioskodawcy