

Uniwersytet Szczeciński  
Instytut Nauk o Morzu i Środowisku

**mgr Ewa Górecka**

**Taxonomy and molecular phylogeny of monoraphid marine benthic diatoms  
with an account on their oil production potential**

promotor: **prof. Dr hab. Andrzej Witkowski**

promotor pomocniczy: **Dr Romain Gastineau**

**STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

W niniejszej rozprawie doktorskiej przedstawiono badania nad wybranymi taksonami okrzemek jednorafowych pochodzących z litoralu morskiego na całym świecie. Pozycja taksonomiczna wybranych okrzemek była niepewna lub niewłaściwie wyznaczona. Częstym zjawiskiem w artykułach naukowych jest błędna identyfikacja okrzemek z rodzajów *Schizostauron* i *Astartiella* ze względu na zmatwaną historię taksonomiczną lub delikatny pancerzyk utrudniające prawidłową identyfikację. Z drugiej strony *Cocconeis*, trzeci z badanych rodzajów, jest polifiletyczny, a taksony jednorafowe o cechach zbliżonych do cech charakterystycznych dla gatunku typowego dla rodzaju *Cocconeis*, *C. scutellum* są do niego przypisywane bez względu na ultrastrukturę czy filogenezę molekularną. *Cocconeis* należy do rodzajów, które są najczęściej rejestrowane w badaniach ekologicznych, zwłaszcza w wodach słodkich. Do analizy sekwencjonowania genomu wybrano szczep *Schizostauron trachyderma*, ponieważ jego morfologia była bardzo dobrze udokumentowana, a filogeneza oparta na trzech genach pochodzi z wcześniej opublikowanych badań. Gatunek ten został również wybrany do analizy zawartości lipidów, ze względu na dostępność wielu kultur monoklonalnych i ich niewymagające zachowanie w hodowli.

W pierwszej części przedkładanej pracy omówiono pozycję taksonomiczną i filogenetyczną okrzemek z rodzajów *Schizostauron* i *Astartiella* w oparciu o analizę cech morfologicznych i dane dotyczące sekwencji DNA. Opisano dwie nowe kombinacje i trzy nowe gatunki *Schizostauron*, a także sześć nowych gatunków *Astartiella*. Opis nowych taksonów oparto na 28 kulturach i dzikich okazach z próbek, z których wyizolowano kultury. Dane

składające się z opisu gatunków obejmowały kształt i liczbę plastydów, morfologię pancerzyka oraz opis ultrastruktury na podstawie mikrofotografii LM, SEM i TEM. Pozycję filogenetyczną tych taksonów zrekonstruowano na podstawie trzech markerów molekularnych SSU, *rbcL*, *psbC*.


W drugiej części pracy podsumowano zbiorowiska przedstawicieli rzędu Achnanthes, które zostały zebrane z wyspy Raivavae na południowym Pacyfiku. Przeprowadzono analizę kladystyczną *Cocconeis vaiamanuensis* i taksonów pokrewnych (*Achnanthes*, *Karayevia*, *Lemnicola*, *Pauliella*, *Planothidium*, *Platessa*, *Psammothidium*, *Rossithidium*) z formalną analizą ultrastruktury *Cocconeis*. Ponadto filogeneza *Cocconeis* spp. została zrekonstruowana w oparciu o sekwencje dostępne online i sekwencję *Cocconeis* cf. *sigillata* ze szczepu wyizolowanego z chińskiej strefy przybrzeżnej Laoshan Shangquan z Morza Żółtego. Rekonstrukcja filogenetyczna oparta na bazie danych genów *rbcL* dostępnych taksonów *Cocconeis* wskazuje, że rodzaj ten nie jest monofiletyczny.

W trzeciej części przedstawiono kompletny genom mitochondrialny i plastydowy *S. trachyderma*. Na podstawie niewielu danych dostępnych w repozytoriach zrekonstruowano wielogenową filogenezę obu genomów. Otrzymane dane porównano z genomami blisko spokrewnionych gatunków okrzemek, które były dostępne w GenBanku® (repozytorium internetowe). Analiza ta jest zarówno uzupełnieniem analizy filogenetycznej z podobnymi wynikami wskazującymi, że *Schizostauron* jest spokrewniony z członkami rodziny Stauroneidaceae, jak i dodatkowym rozszerzeniem referencyjnej bazy danych molekularnych dla przyszłych badań morskich jednoraflowych okrzemek bentosowych. Te dwa genomy to pierwsze opublikowane genomy okrzemek jednoraflowych.

Czwarta część dotyczyła analizy zawartości lipidów i obejmowała pięć szczepów *Schizostauron* spp. (cztery z *S. trachyderma* i jeden ze *Schizostauron kajotkei*). Jeden ze szczepów, wyizolowany z rozmnażającej się płciowo mieszaniny *S. trachyderma*, pochodził od komórki pierwszego podziału, największej komórki dla danego gatunku. Proces rozmnażania płciowego zapoczątkowano u szczepów monoklonalnych *S. trachyderma* w celu szczegółowego określenia typu rozmnażania. Takie dane są dodatkowym wskaźnikiem tożsamości rodzaju *Schizostauron*. Ponadto, konieczne było przeprowadzenie eksperymentu w celu wyizolowania komórek pierwszego podziału do dalszych badań. Bez tych komórek analiza zawartości lipidów nie byłaby możliwa. Po 14-dniowym eksperymencie komórki każdego szczepu wybarwiono barwnikiem fluorescencyjnym Nile Red. Wartość fluorescencji mierzono zarówno za pomocą cytometrii przepływowej, jak i mikroskopii konfokalnej w celu znalezienia

zależności między wielkością komórek a intensywnością fluorescencji (zdolnością akumulacji lipidów). Zarówno pomiary cytometrii przepływowej, jak i wyniki pomiarów kropelek lipidów wskazują na pozytywny związek wielkości komórek *S. trachyderma* z wielkością kropelek lipidów.

Badania, które zostały zaprezentowane w przedłożonej rozprawie doktorskiej dotyczą aktualnych problemów w diatomologii i charakteryzują się multidyscyplinarnym podejściem do taksonomii i filogenezy w ogólności. Ich wyniki we wszystkich swoich aspektach mają charakter nowatorski i są pierwszymi tego typu dla jednorafowych morskich okrzemek bentosowych. Co więcej, udokumentowanie cyklu życiowego *S. trachyderma* pomaga lepiej zrozumieć historię kolejnej linii ewolucyjnej okrzemek jednorafowych, która powstała niezależnie od linii ewolucyjnych rodzin Achnanthaceae, Cocconeidaceae i Achnanthidiaceae, dla których badania tego typu nadal oczekują na realizację. Wreszcie, indukowanie rozmnażania płciowego umożliwiło rozwój komórki pierwszego podziału, która była prawie dwukrotnie większa od komórki macierzystej. Szczepy pochodzące z obu tych komórek zostały wykorzystane w eksperymencie dotyczącym zawartości lipidów. Być może unikalna technika zastosowana do pomiarów kropelek lipidów pomoże w usprawnieniu procesu optymalizacji wzrostu biomasy okrzemek.

24 VI 2022 

Data, podpis

**Słowa kluczowe:** *Astartiella*, *Cocconeis*, *Schizostauron*, filogeneza, genom, rozmnażanie płciowe okrzemek, cykl życiowy, lipidy