

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

DIMORPHISM AND PUTATIVE SEXUAL REPRODUCTION OF CRYPTOPHYTES (CRYPTOPHYCEAE) DYMORFIZM I ROZMNAŻANIE PŁCIOWE KRYPTOFITÓW (CRYPTOPHYCEAE)

Magdalena Solarska

Praca doktorska wykonana w Instytucie Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk w Krakowie pod kierunkiem PD Dr. Kerstin Hoef-Emden.

Kryptofity (Cryptophyceae) są relatywnie małą, ale ekologicznie i ewolucyjnie ważną grupą mikroskopijnych organizmów występujących w różnego typu środowiskach wodnych na całym świecie. W większości są to organizmy fotosyntetyczne, posiadające chlorofil a i c₂ oraz wysoce zmodyfikowane biliproteiny – fikoerytrynę i fikocyjaninę. Inną cechą charakterystyczną dla wszystkich kryptofitów jest obecność wgłębienia komórkowego (bruzdy, gardzieli lub połączenia bruzdy i gardzieli) wysłane drobnymi ciałkami śluzowymi nazywanymi trichocystami. Posiadają także peryplast, który jest strukturą składającą się z wewnętrznego i zewnętrznego komponentu z błoną komórkową pomiędzy obiema warstwami. Badania taksonomiczne tej grupy glonów są bardzo trudne, ponieważ kryptofity mają bardzo dużą zmienność fenotypową, a cechy istotne taksonomiczne są niewidoczne lub niemożliwe do rozróżnienia przy użyciu mikroskopu świetlnego. W związku z tym oznaczanie poszczególnych taksonów do gatunku powinno być poparte badaniami molekularnymi. Wśród kryptofitów występują także gatunki, u których stwierdzono występowanie dwóch morfotypów w cyklu życiowym, zwanych krypto- i kamyplomorfami. Kryptomorfy to formy, których wewnętrzny komponent peryplastu jest płytkowany, natomiast kamyplomorfy to formy z gładkim komponentem. Do tej pory częstość występowania obu morfotypów dla poszczególnych gatunków oraz funkcjonalne znaczenie tego zjawiska pozostawały niewyjaśnione. W związku z tym celami pracy były: wytłumaczenie funkcji dymorfizmu u kryptofitów oraz zbadanie morfotypów u gatunków występujących w ciągu roku w trzech wybranych zbiornikach wodnych na terenie Krakowa.

Badania nad funkcją dymorfizmu przeprowadzono na podstawie eksperymentów z dymorficzną kulturą *Cryptomonas curvata*, którego morfotypy są łatwo odróżnialne podczas obserwacji przy użyciu mikroskopu świetlnego (m. in. kamyplomorfy są dwa razy większe niż kryptomorfy). Po raz pierwszy zaobserwowano i udokumentowano fuzję dwóch kryptomorficznych komórek i ich transformację w kamyplomorfa. Potwierdzono tym samym, że występowanie dymorfizmu u kryptofitów jest związane z rozmnażaniem płciowym. Jednocześnie udowodniono, że kryptofity to organizmy z nieopisanym dotąd cyklem życiowym gdzie obydwie formy, haplo- i diploidalna to jednokomórkowe wiciowce zdolne do rozmnażania wegetatywnego.

Dodatkowo przeprowadzono analizy relatywnej zawartości DNA w dymorficznych kulturach *C. curvata* (kultura pozyskana z kolekcji kultur na Uniwersytecie w Kolonii) i *C. obovoidea* (kultura uzyskana z badań własnych). Poziom ploidalności morfotypów

występujących w kulturach badano przy pomocy jodku propidyny, który wybarwia DNA w komórkach oraz przy użyciu cytometru przepływowego. Uzyskano potwierdzenie występowania haplo- i diploidalnych komórek w kulturze *C. obovoidea* (u *C. curvata* liczba kamyplomorfów była zbyt mała by wykazać różnice), tym samym potwierdzono, że występowanie morfotypów u kryptofitów, wiąże się z rozmnażaniem płciowym.

W celu zbadania występowania gatunków kryptofitów i ich morfotypów, wytypowano trzy zbiorniki wodne na terenie Krakowa. W toku badań wyprowadzono 113 klonalnych kultur kryptofitów. Analiza filogenetyczna sekwencjonowanego częściowego jądrowego LSU rDNA wykazała przynależność wyizolowanych szczepów, zarówno do wcześniej opisanych i zrewidowanych gatunków, jak i przypuszczalnie nowych, nieznanych dotąd taksonów. Pośród 45 zsekwencjonowanych kultur, 37 należało do znanych gatunków, a 8 szczepów nie ma jeszcze ustalonej przynależności gatunkowej. Wśród wyizolowanych kultur zidentyfikowano *C. curvata*, *C. gyropyrenoidosa*, *C. obovoidea*, *C. phaseolus*, *Cryptomonas* sp. 1-3 i *Rhodomonas* sp. Tylko *C. curvata* i *C. phaseolus* były wcześniej podawane z Polski, lecz ich identyfikacja była przeprowadzona tylko na podstawie obserwacji przy pomocy mikroskopu świetlnego.

W celu określenia morfotypów wyizolowanych szczepów przeprowadzono analizy peryplastów przy pomocy skaningowego i transmisyjnego mikroskopu elektronowego. Wyniki wykazały, że większość szczepów *C. curvata* to kryptomorfy, przy czym w dwóch kulturach zaobserwowano także komórki o morfologii przypominającej kamyplomorfy. Wszystkie szczepy *C. phaseolus* były wyłącznie kryptomorficzne, natomiast *C. gyropyrenoidosa* oraz *Cryptomonas* sp. 1-3 były wyłącznie kamyplomorfami. Szczepy *C. obovoidea* były zarówno krypto- jak i kamyplomorfami, ponadto po raz pierwszy uzyskano dymorficzną kulturę tego gatunku (tym samym zwiększając liczbę gatunków z bezpośrednim dowodem na dymorfizm w tej grupie organizmów). Szczepy, które na podstawie badań molekularnych zidentyfikowano jako *Rhodomonas* sp. miały gładkie peryplasty (w rodzinie Pyrenomonadaceae, do której zalicza się *Rhodomonas*, taksony z tym typem peryplasty były przypisywane do rodzaju *Storeatula*). Do tej pory badania filogenetyczne nad rodzajem *Rhodomonas* wykazały, że jest on parafiletyczny sugerując, że rodzaj *Storeatula* zawierający gatunki z gładkim peryplastem jest alternatywnym morfotypem dla rodzajów *Rhinomonas* i *Rhodomonas*, które charakteryzują się płytkowanym peryplastem.