

ODKRYWANIE BIORÓŻNORODNOŚCI MORSKIEJ Z WYKORZYSTANIEM ŚRODOWISKOWEGO DNA

ABSTRAKT (w języku polskim)

Osady morskie są niezwykle istotnym archiwum morskiej bioróżnorodności, obejmującej zarówno organizmy bentosowe, jak i pelagiczne. Środowiskowe DNA (*eDNA*), które zachowuje się w osadach morskich, może być wykorzystywane zarówno do badania składu taksonomicznego współczesnych zbiorowisk organizmów, jak i do rekonstrukcji bioróżnorodności w przeszłości. Analiza DNA osadowego (*sedDNA*) lub kopalnego DNA osadowego (*sedaDNA*) otwiera zupełnie nowe możliwości badania krótko- i długoterminowych zmian ekosystemów morskich zachodzących w odpowiedzi na zmiany klimatyczne i środowiskowe. Ogromny postęp jaki obserwujemy w rozwoju technologii sekwencjonowania nowej generacji pozwala na szybkie sekwencjonowanie DNA ze środowisk morskich czego rezultatem jest stale rosnąca liczba badań opartych o metabarkodowanie (ang. *metabarcoding*). Liczba tych badań rośnie szczególnie intensywnie w przypadku zbiorowisk mikroorganizmów. Jednocześnie, problemy techniczne i wynikające z nich potencjalne błędy nie zostały jeszcze wyeliminowane, choć mogą wpływać na generowanie i analizę danych z metabarkodowania. Dlatego, aby w pełni wykorzystać potencjał metabarkodowania *eDNA* w badaniach współczesnych, jak i przeszłych ekosystemów, potrzebne są dalsze badania. Pozwolą one lepiej zrozumieć związek między zapisami *eDNA* a zmianami w środowisku morskim.

Aby w pełni wykorzystać potencjał *eDNA* w badaniach współczesnej i przeszłej bioróżnorodności morskiej, w niniejszej rozprawie wyznaczono następujące cele: i) zbadanie bioróżnorodności organizmów eukariotycznych w kolumnie wody i osadach powierzchniowych oraz zbadanie stopnia zachowania *eDNA* planktonicznego w osadach morskich; ii) zbadanie bioróżnorodności zbiorowisk wybranych organizmów eukariotycznych (foraminifera) i ich odpowiedzi na zmiany środowiskowe; oraz iii) podsumowanie obecnych postępów w badaniach nad morskim *sedaDNA* oraz omówienie potencjalnych ograniczeń i problemów metodologicznych. Rozprawa doktorska składa się z czterech artykułów naukowych realizujących powyższe zadania badawcze.

Pierwsza część rozprawy, bazując na analizie *eDNA* (RA I), opisuje morskie zbiorowiska eukariotyczne, od kolumny wody po osady powierzchniowe. Główną zaletą analizy *eDNA* jest możliwość uzyskania pełnego zapisu bioróżnorodności morskiej, w tym organizmów nie uwzględnianych w tradycyjnych analizach mikroskopowych. Jednocześnie nieznana jest

dokładność zapisu morskiej bioróżnorodności w DNA osadowym, szczególnie w przypadku organizmów planktonicznych. Aby zgłębić to zagadnienie przeprowadzono badanie zbiorowisk eukariotycznych w Morzach Nordyckich i porównano bioróżnorodność eukariotyczną w kolumnie wody i w osadach powierzchniowych. Nasze badania doprowadziły do następujących wniosków: i) skład taksonomiczny próbek *eDNA* wody i osadów różni się znacząco; ii) duża ilość DNA planktonowego jest transportowana do osadów powierzchniowych i dominuje w zapisie DNA osadowego pod względem liczby sekwencji, ale nie bioróżnorodności; iii) nie wszystkie gatunki planktonowe są w równym stopniu archiwizowane na dnie morskim, a niektóre taksony nano- i pikoplanktonu są praktycznie nieobecne w DNA osadowym. Uzyskane wyniki sugerują, że skład i struktura zbiorowisk planktonowych zarejestrowanych w DNA osadowym różnią się od tego, co obserwuje się w kolumnie wody. Wyniki te sugerują, że skład taksonomiczny i struktura zbiorowisk planktonowych znacznie zmienia się wraz z głębokością wody. Jednocześnie, tylko nieliczne grupy organizmów żyjących w toni wodnej zachowują się w osadach dennych. Ma to znaczenie w kontekście interpretacji zapisów kopalnego DNA osadowego i sugeruje potencjalne błędy wynikające z niekompletnego zapisu organizmów planktonowych.

Druga część, obejmująca dwa artykuły, koncentruje się na zmienności przestrzennej i bioróżnorodności otwornic bentosowych i ich roli jako wskaźników ekologicznych. W pierwszej pracy (RA II) przy pomocy metabarkodowania *eDNA* z osadów powierzchniowych zbadano różnorodność arktycznych otwornic w fiordach i rejonach otwartego morza archipelagu Svalbard. Analiza danych z metabarkodowania ujawniła bardzo wysoką różnorodność filogenetyczną otwornic w porównaniu z tradycyjnymi badaniami opartymi na analizie morfologicznej. Ponad połowa wariantów sekwencji amplikonów (ASV) nie mogła być przypisana do żadnej grupy w referencyjnej bazie danych, co sugeruje potencjalnie dużą obecność nieznanymi linii genetycznych wśród otwornic wód Svalbardu. Skład taksonomiczny zbiorowisk otwornic różnił się między fiordami i obszarami otwartego morza. Wpływ na to miały przede wszystkim warunki oceanograficzne, zwłaszcza obecność poszczególnych mas wodnych, zwłaszcza cieplej i zasolonej wody atlantyckiej. Na podstawie uzyskanych danych zidentyfikowano liczne potencjalne molekularne wskaźniki tej masy wodnej. Badanie to dostarczyło pierwszych tak kompleksowych danych na temat bioróżnorodności otwornicowej w rejonie Svalbardu i przyczyniło się do lepszego opisanie odpowiedzi zbiorowisk otwornicowych na gradienty środowiskowe w Arktyce.

W drugim badaniu (RA III) przeanalizowaliśmy zbiorowiska otwornic głębokowodnych, koncentrując się na ogromnej nieznannej różnorodności gatunkowej ujawnionej przez metabarkodowanie osadów powierzchniowych. W prezentowanym artykule wykorzystano unikalne sygnatury DNA otwornic do klasyfikacji taksonomicznej do tej pory niezidentyfikowanych linii genetycznych otwornic głębokowodnych i opisanie ich rozmieszczenia w oceanach. Analizie poddano zbiorowiska bentosowych otwornic ze Strefy Clarion-Clipperton we wschodniej części Oceanu Spokojnego, porównując ich bioróżnorodność z dostępnymi danymi z innych regionów zarówno głębo- jak i płytkowodnych. W rezultacie zidentyfikowano 61 nowych linii genetycznych otwornic należących do 27 kładów filogenetycznych na podstawie unikalnych sygnatur DNA w hiperzmiennym regionie 37F genu 18S rRNA. Większość z nowych linii została również znaleziona w innych obszarach głębinowych, ale tylko kilka z nich pojawiło się w zbiorach danych z rejonów przybrzeżnych. Sugeruje to, że głębokowodne otwornice bentosowe tworzą unikalną grupę wysoce przystosowaną do środowiska w którym żyją i że migracja między siedliskami płytkiego i głębokiego morza jest stosunkowo ograniczona. Podejście oparte na genetycznych sygnaturach stanowi nowatorską metodę badania rozmieszczenia i ekologii otwornic głębokowodnych, biorąc pod uwagę obecnie mocno ograniczoną bazę danych referencyjnych. Może to być przydatne w przyszłych badaniach wykorzystujących dane z metabarkodowania otwornic do biomonitoringu środowiska lub rekonstrukcji paleoceanograficznych.

Ostatnia część niniejszej rozprawy (RA IV) podsumowuje spektakularne postępy w badaniach nad rekonstrukcją zmian ekosystemów morskich w przeszłości geologicznej przy użyciu kopalnego DNA osadowego (*sedaDNA*). Aby podsumować badania nad morskim *sedaDNA* w ostatnich dwóch dekadach, przeprowadzono systematyczny przegląd literatury, obejmujący 55 oryginalnych badań. Prace te obejmują zarówno badania mikroorganizmów planktonicznych i bentosowych (prokariotów i jednokomórkowych eukariotów), jak i organizmów należących do meio- i makrofauny, których DNA jest zdeponowane w osadach morskich. Niniejszy artykuł przeglądowy opisuje procesy tafonomiczne jakim podlega DNA w środowisku morskim, kluczowe kwestie związane z wykorzystaniem *sedaDNA* w badaniach nad ekosystemami morskimi w przeszłości oraz aktualny stan wiedzy i zastosowań w badaniach *sedaDNA* w środowisku morskim. Przewidujemy, że analizy *sedaDNA* będą wkrótce rutynowo włączane do badań paleoceanograficznych, zapewniając unikalny wgląd w zmiany bioróżnorodności w geologicznych skalach czasowych. Pomogą także w określeniu wpływu

antropopresji oraz kierunku ewolucji ekosystemów morskich. Ciągły rozwój badań nad *sedaDNA* może również pomóc w ustanowieniu i optymalizacji strategii ochrony zasobów morskich i ich zarządzaniu.

Podsumowując, niniejsza praca doktorska przedstawia różnorodne zastosowania metabarkodowania *eDNA* do badania przeszłych i współczesnych ekosystemów oraz podkreśla potencjał i ograniczenia tej metody. Dodatkowo, wyniki uzyskane w toku przedstawionych badań przyczynią się do lepszego poznania różnorodności głębokowodnych i polarnych otwornic. Zapewniają również wgląd w procesy powiązane z tafonomią *eDNA* morskich eukariontów. Jest to kluczowe dla prawidłowej interpretacji zapisów DNA w osadach morskich. Jak wykazano w niniejszej rozprawie, wykorzystanie metabarkodowania *eDNA* ma kluczowe znaczenie dla dalszego rozwoju badań nad przeszłą i współczesną bioróżnorodnością morską.