

Patrycja Zagata Leśnicka

**Molecular analysis of DNA fragments of endosymbiotic algae of *Paramecium bursaria***

**Summary**

*Paramecium bursaria* is a ciliate species living in a symbiotic relationship with green algae. The studies objectives were to identify endosymbionts of *P. bursaria* originating from distant geographical locations and to answer the question whether geographical locations of *P. bursaria* strains are related to the specified symbiont species. Thus, I analyzed forty three symbionts strains of *P. bursaria* originating from distant geographical locations and extracted algae DNA from *P. bursaria* cells. Three DNA fragments were analyzed: two of a nuclear genome (a fragment of ITS1-5.8S rDNA-ITS2 region and a fragment of a gene encoding large subunit ribosomal DNA (LSU rDNA)) and the fragment of plastid genome containing 3'*rpl36*-5'*infA* genes. Three cladograms for each analysed DNA fragment were constructed using neighbor joining and maximum likelihood methods. Haplotype networks for each DNA fragment were drawn using median joining method. The analysis of two ribosomal sequences showed the existence of twenty nine haplotypes (haplotype diversity  $H_d = 0.98736$  for the ITS1-5.8S rDNA-ITS2 and  $H_d = 0.908$  for LSU rDNA) and thirty six haplotypes were identified for 3'*rpl36*-5'*infA* genes ( $H_d = 0.984$ ). The endosymbionts were identified as *Chlorella vulgaris*, *Chlorella variabilis*, *Chlorella sorokiniana* and *Micractinium reisseri*. I rejected the hypotheses concerning: (i) the correlation between *P. bursaria* syngen and the symbiont species; (ii) the relationship between species of a symbiont and geographical distribution; and (iii) the occurrence of the geographical division of symbionts into an American and European group.

**Key words:** *Paramecium bursaria* endosymbionts, ITS1-5.8S rDNA-ITS2; LSU rDNA, chloroplast 3'*rpl36*-5'*infA* genes, syngen.

Patrycja Zagata Leśnicka

Patrycja Zagata Leśnicka

**Analiza molekularna wybranych fragmentów DNA endosymbiotycznych glonów  
*Paramecium bursaria***

**Streszczenie**

*Paramecium bursaria* jest gatunkiem orzęska żyjącym w związku symbiotycznym z glonami. Głównym celem niniejszej pracy była identyfikacja endosymbiontów *Paramecium bursaria* na podstawie analizy molekularnej trzech fragmentów DNA: fragmentu LSU rDNA, fragmentu ITS1-5.8S rDNA-ITS2 i fragmentów genów chloroplastowych: *rpl36* i *infA*. Ponadto kolejnymi założeniami pracy doktorskiej było zbadanie istnienia zależności pomiędzy gatunkiem symbiotycznego glonu a pochodzeniem geograficznym szczepu *Paramecium bursaria*, z którego wyizolowano endosymbionty oraz zależności między gatunkiem symbiotycznego glonu a syngeniem *Paramecium bursaria*. W ramach niniejszej pracy analizowano czterdzieści trzy szczepy *Paramecium bursaria* należące do pięciu syngenów i pochodzące z odległych, niebadanych dotąd stanowisk geograficznych, z których wyizolowano endosymbiotyczne glony. W analizach molekularnych skonstruowano kladogramy dla każdego badanego fragmentu DNA wykorzystując metodę Łączenia Sąsiadów (ang. *neighbor joining*) oraz metodę Największej Wiarygodności (ang. *maximum likelihood*). Dla każdego badanego markera narysowano również sieć haplotypów z wykorzystaniem metody *median joining algorithm*. Analiza fragmentu LSU rDNA wykazała istnienie dwudziestu dziewięciu haplotypów oraz zróżnicowanie w obrębie haplotypów – Hd równe 0.908. Analiza fragmentu ITS1-5.8S rDNA-ITS2 wykazała istnienie dwudziestu dziewięciu haplotypów oraz zróżnicowanie w obrębie haplotypów – Hd równe 0.98736. Analiza fragmentów genów 3'*rpl36*-5'*infA* wykazała istnienie trzydziestu sześciu haplotypów oraz zróżnicowanie w obrębie haplotypów – Hd równe 0.984. W obrębie czterdziestu trzech zebranych szczepów *Paramecium bursaria* wyizolowano endosymbiotyczne glony należące do czterech gatunków: *Chlorella vulgaris*, *Chlorella variabilis*, *Chlorella sorokiniana* oraz *Micractinium reisseri*. W niniejszej pracy wykazano, iż nie istnieje zależność pomiędzy gatunkiem endosymbiotycznego glonu a pochodzeniem geograficznym *Paramecium bursaria*, jak również nie istnieje zależność pomiędzy gatunkiem endosymbiotycznego glonu a syngeniem *Paramecium bursaria*. Można również uznać, iż dotychczasowy podział endosymbiontów *Paramecium bursaria* na grupę Amerykańską i Europejską dotyczy jedynie liczby intronów w odcinku SSU rDNA, natomiast nie ma odzwierciedlenia w rozmieszczeniu geograficznym poszczególnych gatunków.

**Słowa kluczowe:** endosymbiotyczne glony *Paramecium bursaria*, ITS1-5.8S rDNA-ITS2, LSU rDNA, geny chloroplastowe 3'*rpl36*-5'*infA*, syngen.

Patrycja Zagata Leśnicka