

Joanna Sikora

Temat rozprawy: Zastosowanie metody przeczesywania genomu do charakterystyki różnorodności genetycznej blisko spokrewnionych taksonów z kompleksu *Pinus mugo*

Streszczenie

Kompleks *Pinus mugo* to duża grupa blisko spokrewnionych europejskich sosen, które są składową ekosystemów najważniejszych pasm górskich, takich jak Alpy, Karpaty i Pireneje. Duża zmienność morfologiczna poszczególnych taksonów, występowanie sympatryczne, procesy hybrydyzacji i introgresji, obecność mieszańców oraz wielu nazw synonimicznych, a także złożona historia rekolonizacji powoduje, że kompleks *Pinus mugo* stanowi ciekawy, ale jednocześnie bardzo skomplikowany i wymagający obiekt badawczy. Relacje taksonomiczne i genetyczne między taksonami w tym kompleksie są przedmiotem badań i dyskusji od wielu lat. Pomimo zastosowania wielu różnych podejść badawczych, wciąż wymagają one wyjaśnienia i uzupełnienia o nowe dane i wyniki, zwłaszcza te uzyskane metodami wysokoprzepustowymi i narzędziami bioinformatycznymi.

W niniejszej rozprawie doktorskiej zastosowano metodę przeczesywania genomu (ang. *genome skimming*) i sekwencjonowanie nowej generacji (ang. *next-generation sequencing*, NGS) do: 1) charakterystyki zróżnicowania genetycznego sosen z kompleksu *Pinus mugo* i blisko z nimi spokrewnionych taksonów, tj. *Pinus sylvestris* i *Pinus × rhaetica*, 2) wytypowania regionów potencjalnie przydatnych do ich identyfikacji i dalszej analizy oraz 3) wnioskowania filogenetycznego w oparciu o sekwencje pochodzące z genomu chloroplastowego, mitochondrialnego i jądrowego.

Metoda przeczesywania genomu to nowatorskie podejście, które umożliwia uzyskanie frakcji DNA, które występują w komórce w dużej liczbie kopii, tj. jądrowego rybosomalnego DNA (nrDNA) oraz częściowych lub kompletnych sekwencji plastomów i mitogenomów.

Na tej podstawie po raz pierwszy przeprowadzono szczegółową analizę porównawczą genomów chloroplastowych trzech głównych przedstawicieli kompleksu *Pinus mugo*, tj. *Pinus mugo* Turra, *Pinus uncinata* Ramond i *Pinus uliginosa* Neumann, jak również blisko spokrewnionej *Pinus sylvestris*. Uzyskane wyniki wykazały wysokie podobieństwo genomów chloroplastowych trzech analizowanych taksonów, pod względem długości, struktury i liczby genów, i potwierdziły ich bliskie relacje filogenetyczne. Dodatkowo, przeprowadzona

również po raz pierwszy ocena zasadności stosowania jądrowego regionu ITS2 (ang. *internal transcribed spacer 2*) do identyfikacji taksonów w rodzinie Pinaceae, z uwzględnieniem taksonów z kompleksu *Pinus mugo*, wykazała, że użyteczność regionu ITS2 do tego celu jest dość mocno ograniczona. Za pomocą metody przeczesywania genomu wygenerowano również siedem zestawów danych złożonych z sekwencji nukleotydowych pochodzących z trzech genomów organellowych i wykorzystano je do oceny różnorodności genetycznej taksonów i populacji należących do kompleksu *Pinus mugo* oraz określono ich przydatność do identyfikacji analizowanych taksonów z zastosowaniem trzech różnych metod delimitacji. Najwyższy procent sukcesu w rozróżnianiu taksonów z tego kompleksu osiągnięto przy użyciu metody opartej na odległościach i zestawu złożonego z regionów wysoce zmiennych (tzw. hotspotów).

Uzyskane wyniki dostarczają nowych i obszernych zasobów genomicznych do dalszych badań nad kompleksem *Pinus mugo*, a także potwierdzają skuteczność i zasadność stosowania metody przeczesywania genomu do analizy różnorodności genetycznej blisko spokrewnionych taksonów.

Słowa kluczowe: kompleks *Pinus mugo*, przeczesywanie genomu, sekwencjonowanie nowej generacji, identyfikacja taksonów.