Streszczenie

Sasanka otwarta (*Pulsatilla patens* (L.) Mill) obecnie stanowi rzadki element flory europejskiej, ale jeszcze na początku ubiegłego stulecia była gatunkiem pospolicie występującym w Europie środkowo-wschodniej, w tym w Polsce. Jednak w ciągu ostatniego 50-lecia roślina ta drastycznie ograniczyła swoje zasoby populacyjne na tym obszarze i zyskała miano gatunku zagrożonego lub krytycznie zagrożonego, chronionego Konwencją Berneńską, umieszczonego w załączniku II i IV Dyrektywy Siedliskowej. Wostatnich latach została wpisana również na listę gatunków rzadkich i zagrożonych Międzynarodowej Unii Ochrony Przyrody (IUCN). Dość szybkie tempo zanikania populacji *P. patens* spowodowało, że roślina ta stała się ciekawym obiektem badawczym, szczególnie pod względem badania procesów ewolucyjnych jakim podlegają małe izolowane geograficznie populacje jak również badania czynników które mogą ograniczać zasoby populacyjne *P. patens*.

Niniejsza rozprawa doktorska stanowi kolejny etap badań genetycznych sasanki otwartej, które mogą poszerzyć wiedzę o zasobach genomowych tej rośliny w oparciu o genomy organellowe. Do tej pory genomy organellowe wykorzystywano najczęściej do określenia różnic pomiędzy gatunkami, uwzględniając różnice w sekwencjach nukleotydowych poszczególnych genów oraz ich obecności i kolejności ułożenia w genomie. Natomiast informacje o zmienności wewnątrzgatunkowej i strukturze genetycznej populacji bazujące jednocześnie na danych z obu genomów organellowych nie były przedmiotem szerszych analiz. Dlatego też głównym celem podjętych badań była ***analiza efektywności genomów organellowych w badaniach zmienności i struktury genetycznej populacji rzadkiego i zagrożonego gatunku Pulsatilla patens* (L.) Mill.** Postawiony cel zrealizowano poprzez analizy porównawcze genomów chloroplastowych i mitochondrialnych, które obejmowały zarówno nowo zsekwencjonowane genomy jak i dostępne w bazach danych. Badania przeprowadzono na 16 osobnikach z 5 populacji, które wcześniej uwzględniono w analizach genetycznych z wykorzystaniem markerów SSR i ISJ.

Jednym z zadań badawczych zrealizowanych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej było zsekwencjonowanie i opisanie genomu mitochondrialnego *P. patens*. Uzyskane wyniki zaprzeczyły hipotezie występowania jednego głównego chromosomu kolistego („master circle chromosome"). Mitogenom *P. patens* wykazał budowę wielochromosomową, na którą złożyły się trzy liniowe chromosomy flankowane przez odwrócone sekwencje powtórzone, o łącznej długości 986 613 pz. Ze względu na duże rozmiary mitogenomu do badań porównawczych

mających na celu opisanie zmienności na poziomie wewnątrzgatunkowym wytypowano sekwencje genomu mitochondrialnego. Jako sekwencje genomu mitochondrialnego o dużym potencjale w badaniach filogenetycznych i filogeograficznych, które mogą stanowić alternatywne źródło informacji genetycznej względem genomu plastydowego, uznano 14 sekwencji mitochondrialnych o długości powyżej 10 kpz, które nie zwierają regionów pochodzenia plastydowego oraz długich powtórzeń. Na chromosomie pierwszym (chMt1) zidentyfikowano osiem takich sekwencji, na drugim (chMt2) cztery, a na trzecim (chMt3) dwie.

Kolejnym zadaniem badawczym były analizy porównawcze, których celem było opisanie zmienności zarówno na poziomie wewnątrz jak i międzypopulacyjnym. Uzyskane wyniki wykazały, że 14 wytypowanych sekwencji genomu mitochondrialnego wykazało znacznie niższy poziom zmienności w porównaniu do genomu plastydowego. Genomy chloroplastowe pomimo tego, że były bardziej zmienne zidentyfikowały tę samą liczbę haplotypów (11) co regiony genomu mitochondrialnego. Należy jednak podkreślić, że zaobserwowano różnice, gdyż zarówno genomy mitochondrialne jak i chloroplastowe umożliwiły molekularną identyfikację osobników, które były nierozpoznawalne na podstawie jednych lub drugich genomów.

Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowanie w badaniach z zakresu genomiki porównawczej danych o genomach organellowych ma ogromny potencjał i rzuca nowe światło na obraz zmienności genetycznej gatunku, i może stanowić cenne uzupełnienie wiedzy o zasobach genomowych gatunków.