

STRESZCZENIE

Angelika Maria Gomolińska

ZMIENNOŚĆ GENOMÓW ORGANELLOWYCH I WYBRANYCH GENÓW JĄDROWYCH GATUNKÓW Z RODZAJU *ERICA*

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Jakuba Sawickiego w Katedrze Botaniki i Ekologii Ewolucyjnej Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

Rodzaj *Erica* (wrzośce) jest drugim pod względem liczebności rodzajem zaliczanym do rodziny *Ericaceae* (wrzosowate). Ewolucja tego rodzaju, pomimo prężnego rozkwitu badań filogenetycznych na przestrzeni ostatnich lat, nadal pozostaje słabo poznana i ubogo opisana. Rodzaj ten jest szczególnie interesujący w ujęciu badawczym, między innymi ze względu na to, iż tworzą go w głównej mierze, w niemal 80%, gatunki endemiczne. W dokumentacji genomowej przedstawicieli *Erica* istnieje wyraźna luka, która uniemożliwia odtworzenie historii ewolucyjnej, wytypowanie gatunku ancestralnego oraz wyznaczenia dokładnych relacji pomiędzy poszczególnymi gatunkami w obrębie tego rodzaju. Badania ewolucyjne rodziny wrzosowatych z uwzględnieniem otrzymania całych genomów chloroplastowych nabrały tempa w ostatnim czasie, jednak wciąż nie poznano kompletnych plastomów dla wrzośców. Badania nad tym rodzajem, których celem była rewizja systemu klasyfikacji opierały się głównie na predyktorach morfologicznych oraz zespołach markerów genetycznych. Nie prowadzono badań filogenetycznych z uwzględnieniem całych kompletnych grup/rodzin genów genomu chloroplastowego ani kompletnych regionów NOR. Nie dokonano dotychczas rekonstrukcji historii ewolucyjnej z wytypowaniem najbardziej prawdopodobnego przodka, a także nie ustalono związku między poszczególnymi przedstawicielami rodzaju na podstawie, m.in. kompletnych genomów plastydowych czy sekwencji jądrowych NOR.

Niniejsza rozprawa doktorska stanowi istotny etap badań genetycznych wybranych przedstawicieli z rodzaju *Erica*, mogący przyczynić się do ekspandowania wiedzy o zasobach genomowych tych roślin w oparciu o genomy organelowe, operony plastydowe i sekwencje jądrowe NOR. Głównymi celami tej pracy było, m.in. szczegółowe poznanie wzorców

zmienności genetycznej plastomów w obrębie rodzaju *Erica*, wskazanie genów będących bardziej efektywnymi markerami genetycznymi od wcześniej stosowanych, zaproponowanie potencjalnych barkodów dla rodzaju *Erica*., poznanie budowy klastrów NOR w rodzaju *Erica*, które są dobrym markerem w wykrywaniu mieszańców, czy też rekonstrukcja filogenetycznych relacji między wybranymi gatunkami *Erica*, w celu określenia, czy pochodzenie tego rodzaju leży w Europie czy Afryce.

W celu ich realizacji wykonano następujące zadania badawcze:

1. zsekwencjonowano genom chloroplastowy *Erica versicolor* i dokonano analizy porównawczej pomiędzy tym cpDNA a innymi dostępnymi w bazie NCBI pochodzącymi z tej samej rodziny – *Ericaceae*;
2. zsekwencjonowano genom chloroplastowy *Erica arborea* i dokonano analizy porównawczej pomiędzy tym cpDNA a innymi dostępnymi w bazie NCBI pochodzącymi z tej samej rodziny – *Ericaceae*; oraz wykonano analizę porównawczą pomiędzy obydwoma kompletnymi genomami chloroplastowymi: *E. arborea* i *E. versicolor*;
3. otrzymano kompletne sekwencje wszystkich genów chloroplastowych przedstawicieli rodzaju *Erica* poprzez zmapowanie bibliotek na otrzymany kompletny genom *Erica versicolor* i przeprowadzono ich analizę porównawczą oraz analizę zmienności;
4. oszacowano informatywność filogenetyczną oraz analizę filogenomiczną na podstawie genów genomu chloroplastowego w rodzaju *Erica*;
5. dokonano szczegółowej charakterystyki jądrowych regionów NOR rodzaju *Erica*;
6. przeprowadzono analizę filogenomiczną opartą o sekwencje jądrowych regionów NOR w rodzaju *Erica*;
7. wykonano analizę porównawczą regionów odwróconych powtórzeń (IR) kompletnych sekwencji genomów chloroplastowych z rodzaju *Erica* z kompletnymi genomami chloroplastowymi innych przedstawicieli z rodziny *Ericaceae*;
8. obliczono i zwizualizowano wzorce zmienności genomowej wśród genomów chloroplastowych z rodzaju *Erica*; przedstawiając ich wzajemny stopień podobieństwa sekwencji.

Wyniki uzyskane podczas przeprowadzanych badań i analiz pozwoliły stwierdzić, iż:

1. najbardziej prawdopodobnym gatunkiem ancestralnym na aktualnym poziomie badań w rodzaju *Erica* wydaje się być *E. arborea*;
2. najbardziej obiecującymi markerami filogenetycznymi dla rodzaju *Erica* okazały się geny *rpoC2*, *ndhF*, *rpl22*, *rps16*, *rrn16*, *psaJ* i *psbB*, *atpF*, *matK* oraz *ccsA* które mogą stanowić asumpt do opracowania sekwencji barkodowych dla badanego rodzaju;
3. różnice pomiędzy zestawianymi genomami z rodzaju *Erica* dotyczą układu oraz aranżacji genów, co może świadczyć o specyficznym charakterze tempa ewolucji plastomów południowoafrykańskich wobec gatunku rozproszonego bikontynentalnego, trudno jednak ocenić ten charakter jako wysoce konserwatywny, bowiem porównanie genomów wskazuje relatywnie niski poziom konserwatywności na poziomie 63%;
4. analiza regionów odwróconych powtórzeń pozwala w znaczącym stopniu odróżnić sekwencje należące do rodzaju *Erica* od innych przedstawicieli z rodziny *Ericaceae*
5. zestawienie poszczególnych drzew filogenetycznych uniemożliwia skuteczną rekonstrukcję filogenetyczną w obrębie rodzaju oraz ustalenie szczegółowych powiązań pomiędzy analizowanymi gatunkami;
6. badane gatunki wykazują występowanie sowitych liczb sekwencji powtórzeniowych, w głównej mierze skumulowanych w regionach niekodujących plastomów;
7. regiony niekodujące charakteryzują się dużo wyższym poziomem zachodzących zmian i dywergencji niż regiony kodujące badanych cpDNA;
8. analizy regionów NOR, najbardziej informatywnym filogenetycznie obszarem ukazały 3'ETS + NTS, wzorce zróżnicowania sekwencji powtórzonych w obrębie IGS odzwierciedlają w pewnym stopniu procesy ewolucyjne zachodzące w rodzaju *Erica*.

Rekonstrukcja filogenetyczna rodziny *Ericaceae* w oparciu o całe genomy oraz skonstruowana na podstawie regionów odwróconych powtórzeń po raz pierwszy uwzględniła nie tylko gatunki z rodzaju *Erica*, ale także gatunek *Chamaedaphne calyculata*. Ponadto praca ta uwzględniła także po raz pierwszy dokładną budowę IR dla rodzaju *Chamaedaphne*. Przeprowadzone badania dostarczyły niezwykle frapujących informacji z zakresu analiz porównawczych, dostarczając nowych danych rozszerzających dotychczasową wiedzę ze zmienności genetycznej i zasobów genomowych rodzaju *Erica*, wzbogacając także dokumentację całej rodziny *Ericaceae*.