

Population history and selection in closely related mountain pine species (genus *Pinus*) in Europe

Historia populacji i procesy selekcyjne blisko spokrewnionych gatunków sosen górskich (rodzaj Pinus) w Europie

Streszczenie

Sosna górská (*Pinus mugo* Turra) i sosna hakowata (*P. uncinata* Ramond ex DC.) stanowią parę taksonów siostrzanych o słabo rozpoznanej historii ewolucyjnej i relacjach pokrewieństwa. Te dwa gatunki roślin iglastych zasiedlają podobne stanowiska rozrzucone w subalpejskim paśmie europejskich masywów górskich. Sosny te, razem z innym blisko spokrewnionym, przeważnie nizinnym gatunkiem referencyjnym – sosną zwyczajną (*Pinus sylvestris* L.), stanowią dogodny układ porównawczy w badaniach genetycznych podstaw przystosowań drzew leśnych do warunków wysokogórskich. Dla roślinności górskiej wyzwaniami środowiskowymi jest min. wzmożone promieniowanie słoneczne, niższe ciśnienie atmosferyczne i obniżona temperatura otoczenia, a w warunkach europejskich także silne skrócenie okresu wegetacji i często dynamiczne zmiany warunków pogodowych. Jako długowieczne fanerofity, dwie omawiane sosny górskie musiały przystosować się w sposób umożliwiający im zrównoważenie nakładów potrzebnych na wzrost, reprodukcję, regenerację i przetrwanie niekorzystnych warunków. Jednakże molekularne podstawy przystosowania tych, i innych, roślin do warunków górskich pozostają wciąż słabo poznane. Niniejsza praca doktorska stanowi próbę identyfikacji regionów genomowych mogących odpowiadać za ewolucję i przystosowanie sosny górskiej oraz sosny hakowatej do ich subalpejskich siedlisk. Pierwszym etapem badań były analizy filogeograficzne dotyczące wzajemnych relacji genetycznych pomiędzy i w obrębie 27 naturalnych populacji tych taksonów. Rekonstrukcje oparte na polimorfizmie nowo opracowanych markerów mitochondrialnego DNA rzuciły światło na obecną strukturę genetyczną populacji oraz na możliwe historyczne drogi ich migracji. Kolejne etapy pracy koncentrowały się na zmienności genomu jądrowego i potencjalnej zmienności adaptacyjnej badanych gatunków. W badaniach wykorzystano dane genotypowe dla 438 prób, pozyskane z użyciem macierzy zawierającej kilkadziesiąt tysięcy markerów typu SNP (pojedynczych miejsc zmiennych) oraz przetestowano ich zmienność pomiędzy poszczególnymi gatunkami i populacjami. Przeszukano zestaw tych markerów pod kątem istotnych statystycznie odchyień częstości alleli od częstości obserwowanych dla tła genetycznego, i dokonano przypisania prawdopodobnych funkcji genów, z których pochodziły te markery. Uzyskane dane pozwoliły na jednoznaczne rozróżnienie poszczególnych taksonów oraz ujawniły istnienie struktury populacji u dwóch gatunków. Analizy porównawcze z sosną zwyczajną, pozwoliły na identyfikację 35 genów kandydackich, odróżniających *P. mugo* i *P. uncinata* od taksonu referencyjnego i potencjalnie związanych z kształtowaniem ich przystosowań do warunków górskich. Wśród nich znalazły się geny kodujących białka odpowiedzialne za fotosyntezę, fotorespirację, gospodarkę reaktywnymi formami tlenu (homeostazę redoks), a także regulację transkrypcji i edycję mRNA. Nieco więcej, bo 75 markerów SNP, różnicowało dwa taksony siostrzane. Te polimorfizmy obecne były głównie wśród genów związanych z ekspresją i metabolizmem. W ostatnim etapie badań weryfikacji poddano wpływ regulacji transkrypcji na proces adaptacji tych gatunków do warunków górskich. Na podstawie analizy całkowitego RNA osobników uzyskanych z nasion zebranych w naturalnych populacjach i hodowanych w

jednakowych warunkach szklarniowych, dokonano składania *de novo* transkryptomu referencyjnego, a następnie analizy ekspresji poszczególnych genów. Profile ekspresji okazały się zasadniczo podobne - zidentyfikowano łącznie zaledwie 121 transkryptów o istotnym zróżnicowaniu pomiędzy którąkolwiek z par taksonów. Przypisane na podstawie oryginalnych sekwencji funkcje tych genów należały do takich kategorii jak: modyfikacja drewna oraz odpowiedź na stres wywołany przez różne czynniki biotyczne i abiotyczne, w tym stres oksydacyjny. Wiele z wykrytych genów jest dobrymi kandydatami potencjalnie związanymi z adaptacją badanych sosen górskich do wymagań ich siedliska. Przykładowo, regulacja ekspresji genów zaangażowanych w biosyntezę ligniny może być powiązana z silnymi wiatrami i grubą pokrywą śnieżną, której doświadczają te sosny w swoim środowisku. Podsumowując, przedstawione badania dostarczają nowej wiedzy na temat procesów kształtujących neutralną i adaptacyjną zmienność genetyczną badanych gatunków sosen oraz pogłębiają naszą wiedzę na temat procesów demograficznych i ewolucyjnych, które leżą u podstaw ich dywergencji ekologicznej.