

Streszczenie

W mojej pracy doktorskiej używałem metod wysokoprzepustowego sekwencjonowania oraz technik bioinformatycznych, aby zbadać trzy ważne zagadnienia we współczesnej biologii ewolucyjnej. Po pierwsze, analizowałem transkryptom linii pochodzących z wielkoskalowego eksperymentu selekcyjnego na nornicy rudej, aby zbadać genetyczne podstawy adaptacji. Następnie, badałem wpływ doboru płciowego na zróżnicowanie ekspresji genów między płciami, poprzez identyfikację i analizę genów o ekspresji zależnej od płci u samic i dwóch typów samców rozkruszka hiacyntowego. W ostatnim rozdziale konstruowałem modele demograficzne, mające wyjaśnić historyczny przebieg specjacji traszki zwyczajnej i traszki karpackiej oraz wzorec przepływu genów od czasu rozdzielenia się tych gatunków.

Badania zaprezentowane w rozdziale pierwszym stanowią pierwszą kompleksową analizę transkryptomu linii pochodzących z wielkoskalowego eksperymentu selekcyjnego na nornicy rudej (*Myodes glareolus*). W tej pracy analizowałem transkryptom pochodzący z tkanki mięśnia sercowego nornic z linii selekcyjowanej na wysokie tempo metabolizmu oraz z linii kontrolnych. Użycie pojedynczej ścieżki na sekwencjonerze 454 Titanium oraz rekonstrukcja *de novo* transkryptomu pozwoliło na wykrycie ponad 14 000 genów – wśród których udało się zidentyfikować prawie wszystkie geny ulegające ekspresji w sercu myszy (*Mus musculus*). U większości transkryptów udało się w pełni zrekonstruować część kodującą sekwencji. W całym transkryptomie zidentyfikowano ponad 19 000 polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (*single nucleotide polymorphism*, SNP), z czego ponad 1000 wykazywało istotne różnice w częstości alleli pomiędzy liniami selekcyjowanymi a liniami kontrolnymi. Wykryte polimorfizmy SNP stanowią zasób markerów, które mogą zostać użyte do wykrywania genów leżących u podstaw mikro-ewolucyjnej odpowiedzi na dobór na wzrost maksymalnego tempa metabolizmu. Kolejnym istotnym wynikiem, nie odnotowanym dotychczas u gatunków nie-modelowych, była obserwacja powszechnej transkrypcji z regionów niekodujących białek.

Rozdział drugi zgłębia wpływ doboru płciowego na zróżnicowanie ekspresji genów między płciami u rozkruszka hiacyntowego (*Rhizoglyphus robini*). Wśród samców tego gatunku występują dwa typy, różniące się wyglądem i zachowaniem: uzbrojone samce walczące oraz nieuzbrojone samce niewalczące - morfologiczne podobne do samic. Zsekwencjonowany a następnie zrekonstruowany transkryptom posłużył do badania profilów ekspresji genów dla każdej z płci oraz obu form samców. Jako sekwencje referencyjne zostały użyte transkryptomowe modele genów, stanowiące wspólną referencję dla alleli pochodzących z tego samego locus oraz dla cząsteczek powstałych w wyniku alternatywnego splicingu. Uzyskane wyniki wskazują na zgodność między stopniem zróżnicowania ekspresji genów, a stopniem dymorfizmu płciowego: geny o ekspresji podwyższonej u samców walczących stanowiły około 80% wszystkich genów, których ekspresja (w porównaniu z poziomem u samic) była wyższa u jednego tylko morfu samców. Ponadto badania pokazały że 1) geny zależne od płci ewoluują szybciej niż geny o podobnej ekspresji u obu płci, 2) geny mające wyższą ekspresję u samców ewoluują szybciej niż geny mające wyższą ekspresję u samic. Na szybszą ewolucję wskazuje wyższe tempo zastępowania genów ulegających pseudogenizacji przez nowopowstałe geny w procesach duplikacji, poliploidyzacji lub transpozycji (*gene turnover rate*) oraz wyższe tempo podstawień aminokwasowych w białkach.

Powyższa praca wskazuje, że dobór płciowy (działający silniej na samce), może przyspieszać tempo ewolucji molekularnej.

Ostatni rozdział został poświęcony badaniom historii dwóch siostrzanych gatunków: traszki zwyczajnej (*Lissotriton vulgaris*) i traszki karpackiej (*Lissotriton montandoni*), obecnie rozmieszczonych parapatrycznie, mających strefy hybrydyzacji w niższych strefach Karpat. Liczne markery SNP zostały zidentyfikowane w referencyjnym transkryptomie poprzez (1) zsekwencjonowanie na urządzeniu Illumina HiSeq2000 transkryptomu z tkanki wątroby, (2) rekonstrukcję *de novo* transkryptomu oraz (3) konstrukcję transkryptomowych modeli genów. Następnie, spektra frekwencji alleli, oparte na danych z markerów SNP, zostały użyte do wnioskowania o modelach demograficznych. Przetestowano szereg modeli począwszy od modelu z całkowitą izolacją aż po modele testujące scenariusze przepływu genów wraz ze zmianami demograficznymi. Według modelu demograficznego najlepiej pasującego do danych, populacja ancestralna *Lissotriton sp.* uległa dywergencji około 5.5 milionów lat temu. Po okresie izolacji trwającej około 2 miliony lat, populacje wznowiły wymianę genów i proces ten zachodzi do chwili obecnej. Gatunki zmieniały swoje liczebności od czasu rozdzielenia się, a obecnie efektywne wielkości populacji wynoszą 700 tysięcy (traszka zwyczajna) oraz 200 tysięcy (traszka karpacka) osobników. Przepływ genów zachodził w obu kierunkach i cechowało go duże zróżnicowanie na przestrzeni całego genomu. Badanie te pokazały złożoną historię długoterminowego przyptywu genów pomiędzy 2 gatunkami z rodzaju *Lissotriton*, gdzie podział populacji ancestralnej nastąpił wiele milionów lat temu a bariera rozrodcza jest wciąż niepełna.

