

Sposób rozmnażania jest jednym z czynników odgrywających istotną rolę w ewolucji roślin a zagadnienia z nim związane od dawna przyciągają uwagę naukowców, jednak pomimo intensywnych badań wiele problemów nie zostało jeszcze wyjaśnionych. Rośliny w procesie ewolucji wytworzyły różnorodne modele rozmnażania: wegetatywne (bezpłciowe) i generatywne (płciowe). Wśród roślin rozmnażających się płciowo można wyróżnić gatunki rozdzielnopłciowe oraz obupłciowe z różnym rozmieszczeniem rodni i plemni na jednym osobniku. Zróżnicowane są również mechanizmy odpowiedzialne za determinację płci, a co za tym idzie są one jeszcze słabo poznane. Płeć u roślin może być determinowana na poziomie genetycznym w wyniku obecności chromosomów płciowych, pojedynczych genów, na poziomie fizjologicznym - regulacja fitohormonalna, epigenetycznym - regulacja ekspresji genów, czy ze względu na stosunek chromosomów płci do autosomów. Jednak badania mające na celu poznanie czynników determinujących płęć skupiają się głównie wokół roślin wyższych, o dużym znaczeniu gospodarczym np. szpinak, szparagi, czy papaja. U wątrobowców - roślin, które według najnowszych badań stanowią pierwszą linię rozwojową roślin lądowych, mechanizmy determinacji płci są jeszcze bardzo słabo poznane.

Projekt ma na celu poznanie mechanizmów determinacji płci u wątrobowców liściastych z rodziny Calypogeiaceae, a także ewolucyjnych konsekwencji, jakie niesie za sobą model rozmnażania w procesie specjacji. Zbadanie czy ten mechanizm jest siłą napędową ewolucji? Kolejnym celem projektu jest rekonstrukcja filogenezy analizowanej rodziny. Rodzina Calypogeiaceae liczy ok. 120 gatunków skupionych w 4 rodzajach: *Eocalypogeia*, *Metacalypogeia*, *Mnioloma* i *Calypogeia* o różnym zasięgu geograficznym, od bardzo ograniczonego (neotropikalny lub paleotropikalny) do szerokiego holarktycznego. Występują tu gatunki dwupiennie oraz jednopienne o różnym rozmieszczeniu rodni i plemni na jednym osobniku (gametoficie). Ponadto, niektóre gatunki mają zdolność do tworzenia rozmnożeń służących do rozmnażania wegetatywnego, inne takiej zdolności nie wykształciły. Powyższe cechy wybranej do badań rodziny wątrobowców dają szerokie możliwości analizy mechanizmów determinujących płęć w tej grupie roślin.

W projekcie będą realizowane badania podstawowe obejmujące poszukiwanie mechanizmów determinacji płci dla niezbadanych dotąd gatunków wątrobowców należących do rodziny Calypogeiaceae. Mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój gametofitu żeńskiego, czy męskiego będziemy poszukiwać na poziomie genomu, tzn. specyficznych-płciowo sekwencji wśród sekwencji uzyskanych na drodze sekwencjonowania transkryptomów, analizując różnice pomiędzy gametofitami płonymi oraz płodnymi (żeńskimi i męskim) oraz na poziomie cytogenetycznym, aby wykryte sekwencje specyficzne-płciowo zlokalizować w chromosomach. W pierwszym etapie badań analizy będą prowadzone w oparciu o oznaczony genetycznie żywy materiał uzyskany w kulturach *in vitro* dla gatunków z rodzaju *Calypogeia*: dwupiętnych *C. suecica*, *C. arguta*, które są często płodne i mają zdolność do tworzenia rozmnożeń oraz jednopiętnych *C. azurea*, *C. sphagnicola*, które powstały w wyniku allopoliploidyzacji. W dalszej kolejności, aby sprawdzić, czy wykryte mechanizmy są uniwersalne dla całej rodziny do badań zostaną włączone gatunki reprezentujące wszystkie rodzaje i podrodzaje. Ponadto, zostanie wykonana analiza filogenetyczna rodziny na podstawie kompletnych genomów organellowych uzyskanych metodą NGS.

Wybór obiektu badań podyktowany jest tym, iż w tej grupie roślin mechanizmy odpowiedzialne za determinację płci nie były do tej pory badane. Jak dotąd tylko nieliczne prace na ten temat były poświęcone wątrobowcom, które prawie wyłącznie koncentrowały się wokół najstarszych ewolucyjnie gatunków wątrobowców plechowatych. Przedmiotem planowanych badań jest natomiast rodzina wątrobowców liściastych, jedna z najmłodszych ewolucyjnie, tak więc uzyskane wyniki pozwolą wypełnić istotną lukę w naszej wiedzy na temat modeli determinacji płci u roślin o różnym wieku ewolucyjnym. Wybrany obiekt badań obejmuje zarówno gatunki haploidalne jak i poliploidalne, dwu- i jednopienne, występujące na różnych substratach, daje to szerokie możliwości interpretacji uzyskanych wyników. Wątrobowce to jedna z trzech (obok mchów i glewików) gromad roślin, które tradycyjnie nazywane są mszakami. Gromada wątrobowców na świecie liczy ok. 7 tys. gatunków. Dominującą fazą cyklu życiowego wątrobowców jest haploidalny gametofit i w przeciwieństwie do roślin naczyniowych przeważają tu gatunki dwupiennie, które stanowią ok. 65%. Wątrobowce to organizmy, które odegrały kluczową rolę w ewolucji roślin lądowych. Jak wskazują dowody kopalne oraz wyniki badań filogenetycznych opartych na analizie genów chloroplastowych, mitochondrialnych i jądrowych, a także analizy porównawcze całych genomów mitochondrialnych i chloroplastowych to wątrobowce były pierwszymi roślinami, które zasiedliły ląd i były obecne na ziemi już około 475 milion lat temu. To właśnie u *Sphaerocarpos donnellii*, czyli gatunku należącego do wątrobowców plechowatych po raz pierwszy u roślin lądowych zostały opisane heteromorficzne chromosomy płci. Jak dotąd heteromorficzne chromosomy płci u wątrobowców zostały wykryte u 4 gatunków będących przedstawicielami najstarszych linii ewolucyjnych: *Sphaerocarpos*, *Marchantia*, *Pellia*, których wiek jest szacowany na ponad 370 mln lat. Rodzina Calypogeiaceae to jedna z najmłodszych rodzin wątrobowców liściastych, licząca ok. 50 mln. Powstaje zatem interesujące pytanie, czy wiek ewolucyjny był wystarczający do nagromadzenia zmian i powstania heteromorficznych chromosomów płci u dwupiętnych gatunków z tej rodziny.