

Autoreferat

1. Imię i Nazwisko

Hanna Bolibok-Brągoszewska.

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

a) magister inżynier ogrodnictwa – Akademia Rolnicza w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie), Wydział Ogrodniczy, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin Ogrodniczych, 1999

b) doktor nauk rolniczych– Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu (obecnie Wydział Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu), Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, 2004

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Analiza molekularna reakcji w kulturze *in vitro* niedojrzałych zarodków i niedojrzałych kwiatostanów żyta ozimego (*Secale cereale* L.) przy użyciu markerów mikrosatelitarnych”

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

od 30.12.2004 – Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Wydział Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, adiunkt.

3.12.2008 – 30.11.2009 – l’Institut National de la Recherche Agronomique, San Giuliano, Francja, pracownik naukowy.

20.03.2013 – 18.03.2014 – urlop macierzyński/rodzicielski

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego,

Opracowanie markerów molekularnych, ich charakterystyka oraz zastosowanie do konstrukcji map genetycznych bardzo wysokiej gęstości i poznania struktury zróżnicowania genetycznego żyta (*Secale cereale* L.).

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa),

H1. Hanna Bolibok, Monika Rakoczy-Trojanowska, Aneta Hromada, Robert Pietrzykowski, 2005, The efficiency of different PCR-based marker system in assessing genetic diversity among winter rye (*Secale cereale* L.) inbred lines, Euphytica 146: 109-115.

IF 2005: 0,884

lista MNiI 2005/2006: 20 pkt.

liczba cytowań: 19

IF 2014: 1,385

lista MNiSW 2014: 30 pkt.

H2. Hanna Bolibok-Brągoszewska, Katarzyna Heller-Uszyńska, Peter Wenzl, Grzegorz Uszyński, Andrzej Kilian, Monika Rakoczy-Trojanowska, 2009, DArT markers for the rye genome - genetic diversity and mapping. BMC Genomics 10:578

IF 2009: 3,759 lista MNiSW ujednolicona 2007-2010: 32 pkt. liczba cytowań: 27
IF 2014: 3,896 lista MNiSW 2014: 40 pkt.

H3. Paweł Milczarski*, Hanna Bolibok-Brągoszewska*, Beata Myśków, Stefan Stojalowski, Katarzyna Heller-Uszyńska, Magdalena Góralska, Piotr Brągoszewski, Grzegorz Uszyński, Andrzej Kilian, Monika Rakoczy-Trojanowska, 2011, A high density consensus map of rye (*Secale cereale* L.) based on DArT markers. PloS ONE 6(12): e28495

*równorzędny wkład

IF 2011: 4,092 lista MNiSW 2011: 40 pkt. liczba cytowań: 22
IF 2014: 3,234 lista MNiSW 2014: 40 pkt.

H4. Hanna Bolibok-Brągoszewska, Natalia Zabierzewska, Aneta Hromada-Judycka, Ludmiła Krzewska, 2012, SSAP markers based on a novel Ty1-copia like element are a powerful tool for the assessment of genetic diversity in rye (*Secale cereale* L.) inbred lines, Cereal Research Communications 40: 204-209

IF 2012: 0,549 lista MNiSW 2012: 15 pkt. liczba cytowań: 1
IF 2014: 0,607 lista MNiSW 2014: 15 pkt.

H5. Hanna Bolibok-Brągoszewska, Małgorzata Targońska, Leszek Bolibok, Andrzej Kilian, Monika Rakoczy-Trojanowska, 2014, Genome-wide characterization of genetic diversity and population structure in *Secale*, BMC Plant Biology 14: 184

IF 2014: 3,813 lista MNiSW 2014: 40 pkt. liczba cytowań: 1

c) omówienie celu naukowego ww. -prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Żyto uprawne (*Secale cereale* L.) jest jedną z najważniejszych roślin zbożowych uprawianych w Europie, głównie w jej centralnej, północnej i wschodniej części. Polska zalicza się do wiodących producentów żyta, związane jest to z dobrym przystosowaniem tego gatunku do warunków glebowo klimatycznych występujących na dużym obszarze naszego kraju.

Żyto posiada pewne unikalne cechy, które czynią je atrakcyjnym zarówno dla producentów jak i dla konsumentów. Odznacza się wysoką odpornością na stresy biotyczne i abiotyczne (takie jak, susza, chłód, wysoka zawartość glinu w podłożu) oraz zdolnością do bardzo efektywnego wykorzystania składników pokarmowych z podłoża, w związku z powyższym plonuje dobrze na stosunkowo słabych glebach, nie wymaga intensywnego nawożenia i ochrony chemicznej. Charakteryzuje się również walorami prozdrowotnymi, między innymi ze względu na wysoką zawartość błonnika pokarmowego. Jest cennym źródłem minerałów takich jak cynk, żelazo, fosfor, zawiera również związki bioaktywne. Udowodniono, że spożywanie chleba żytniego ma pozytywny wpływ na zdrowie ludzkie, poprawia funkcjonowanie jelit i przyczynia się do obniżenia ryzyka zachorowania na raka jelita grubego (Gråsten i wsp., 2000; Holma i wsp., 2010).

Pod względem genetycznym żyto jest diploidem, jego materiał genetyczny jest zorganizowany w 7 par chromosomów homologicznych. Genom żyta stanowi wyzwanie dla genetyków, nie tylko ze względu na swój rozmiar – jego wielkość wynosi około 8,1 Gbp (Dolezel i wsp., 1998), ale również z powodu bardzo dużego udziału elementów powtórzonych – szacuje się, że stanowią one aż 92 % genomu (Flavell i wsp., 1974). Żyto uprawne jest rośliną obcopylną, występuje u niego samoniezgodność i depresja wsobna, co dodatkowo utrudnia prowadzenie badań i hodowlę tego gatunku.

Na świecie żytnie banki genów prowadzone są przez ponad 80 instytucji. Ocenia się, że zgromadzonych w nich jest ponad 21 000 obiektów z rodzaju *Secale* (FAO, 2010). Do Wspólnotowego Katalogu Odmian Roślin Uprawnych (Komisja Europejska, 2013) wpisanych jest obecnie 157 odmian żyta, z czego 122 to odmiany populacyjne.

W momencie rozpoczynania badań składających się na przedstawiane do recenzji osiągnięcie naukowe wiedza na temat genomu żyta i zróżnicowania genetycznego tego gatunku była bardzo ograniczona. Dostępnych było kilka map genetycznych średniej gęstości (Bednarek i wsp., 2003; Khlestkina i wsp., 2004; Korzun i wsp., 2001), jedna z nich skonstruowana przeze mnie podczas studiów doktoranckich w Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin (KGHiBR) w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (Bolibok i wsp., 2007, pkt I A4 w Wykazie opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych). Gęstość tych map była zbyt mała aby umożliwić ich praktyczne wykorzystanie, np. do lokalizacji *loci* warunkujących cechy ilościowe i identyfikacji markerów sprzężonych z interesującą cechą, które mogłyby być pomocne w hodowli. Ówczesne dostępne prace naukowe dotyczące zróżnicowania genetycznego żyta prezentowały wyniki analiz stosunkowo niewielkiej liczby obiektów, wykonanych przy pomocy niewielkiej liczby markerów (Ma i wsp., 2004; Persson i von Bothmer, 2002; Persson i wsp., 2001) – przedstawiały zatem bardzo fragmentaryczny obraz zróżnicowania genetycznego u tego gatunku a uzyskane informacje były trudne do odniesienia do praktycznych prac hodowlanych. Podjęłam zatem ukierunkowane badania naukowe w celu rozwinięcia zasobów genomicznych dostępnych dla naukowców i hodowców zajmujących się żytem oraz wykorzystania ich do dogłębnego scharakteryzowania struktury zróżnicowania genetycznego w obrębie tego gatunku.

Pierwszym etapem tych prac było zbadanie i porównanie skuteczności różnych markerów DNA: SSR, ISSR i SAMPL w wykrywaniu polimorfizmu u żyta (H1). Do badań tych zgromadzono unikalny materiał roślinny – linie wsobne żyta, w większości wyhodowane w KGHiBR. Należy podkreślić, że była to pierwsza praca naukowa, w której porównano skuteczność w wykrywaniu polimorfizmu markerów SAMPL i innych markerów molekularnych odwołujących się do występujących w badanych genomie sekwencji mikrosatelitarnych: SSR i ISSR. System markerów SAMPL dla żyta został opracowany przeze mnie podczas realizacji pracy doktorskiej w celu zagęszczenia mapy genetycznej populacji L318 x L9. Drugim celem pracy było ustalenie, czy analizy skupień przeprowadzane przy wykorzystaniu różnych metod konstrukcji drzewa i na podstawie danych uzyskanych przy pomocy różnych markerów dają zbliżony obraz zróżnicowania genetycznego badanych linii wsobnych. Wykazano, że rozróżnienie wszystkich badanych linii było możliwe przy pomocy każdego z zastosowanych systemów markerów, jednak różniły się one skutecznością w wykrywaniu polimorfizmu. Zaobserwowano również, że analizy skupień przeprowadzone na podstawie danych uzyskanych przy pomocy różnych systemów markerów i różnymi metodami statystycznymi dały odmienny obraz relacji między badanymi obiektami. Wskazuje to na ograniczoną wiarygodność wyników spotykanych niekiedy w literaturze analiz wykorzystujących niewielką liczbę *loci*, o nieznanym położeniu w genomie do

określania relacji genetycznych, a zwłaszcza na niezasadność wnioskowania o strukturze zróżnicowania genetycznego danego gatunku na podstawie wyników genotypowania niewielką liczbą markerów jednego typu.

Następnie podjęłam prace nad opracowaniem markerów SSAP bazujących na sekwencjach retrotranspozonowych (H4). Ze względu na stabilny charakter insercji retrotranspozonów w genomie bazujące na nich markery są szczególnie przydatne w badaniach filogenetycznych (Pearce i wsp., 1999), jednakże odpowiedni system markerowy nie był jeszcze dostępny dla żyta. Realizację tego projektu rozpoczęłam od wyizolowania z genomu linii wsobnej żyta L318 fragmentu sekwencji retrotranspozonowej typu *copia*. Wykonanie tych analiz było nieodzowne, ponieważ fragmenty żytnich sekwencji retrotranspozonowych dostępne ówczesnie w publicznych bazach danych nie zawierały charakterystycznych elementów strukturalnych, wykorzystywanych do projektowania starterów używanych w procedurach wykrywających polimorfizm insercji retrotranspozonowych. Jeden z wyizolowanych fragmentów, któremu nadano nazwę RYRE-4, posiadał charakterystyczne elementy strukturalne retrotranspozonu z rodziny *Ty1-copia*, dodatkowo nie wykazywał podobieństwa do żytnich sekwencji zdeponowanych w publicznych bazach danych. Analizy SSAP, w których wykorzystano starter zaprojektowany na podstawie sekwencji nowo wyizolowanego retrotranspozonu zaskutkowały uzyskaniem przejrzystych profili amplifikacyjnych z dużą liczbą polimorficznych prążków. Wartości parametrów stosowanych do oceny skuteczności markerów molekularnych wskazują jednoznacznie, że opracowany protokół SSAP jest bardzo skutecznym narzędziem do wykrywania polimorfizmu u żyta.

W okresie realizacji badań składających się na przedstawiane do recenzji osiągnięcie naukowe nastąpił gwałtowny rozwój genomiki, manifestujący się między innymi pojawieniem się i upowszechnieniem wysokoprzepustowych technologii genotypowania, wykrywających różnice w badanych genomach o charakterze SNP oraz InDel (Gupta i wsp., 2008). Naturalną konsekwencją tego trendu było podjęcie działań mających na celu wdrożenie wysokoprzepustowanej metody genotypowania dla żyta. W momencie rozpoczynania tych prac liczba żytnich sekwencji EST w bazie EMBL wynosiła zaledwie 8122 - reprezentowały one łącznie 3.7 Mb sekwencji DNA, czyli 0,05% zakładanej wielkości genomu tego gatunku (Hackauf i wsp., 2009), a referencyjna sekwencja nukleotydowa genomu żyta nie jest dostępna do dnia dzisiejszego. Z tego względu najtrafniejszym wyborem wydała się metoda DArT (*Diversity Arrays Technology*, Jaccoud i wsp., 2001), która przy wykorzystaniu techniki mikromacierzy pozwala na równoczesną detekcję polimorfizmu DNA w kilku tysiącach *loci*, a przeprowadzenie analiz nie jest uzależnione od znajomości sekwencji badanego organizmu. Nawiązałam współpracę z autorem metody - dr Andrzejem Kilianem i wyjechałam na kilkutygodniowy staż naukowy do kierowanego przez niego ośrodka Diversity Arrays Technology w Canberrze, w Australii. Wyniki przeprowadzonych tam prac opublikowane zostały w kolejnej pracy składającej się na osiągnięcie naukowe (H2).

Podczas mojego pobytu w Diversity Arrays Technology współuczestniczyłam w stworzeniu panelu zmienności żyta, składającego się z 11520 klonów. Powstał on przy wykorzystaniu DNA 15 linii wsobnych żyta, wybranych spośród 30 linii badanych w pracach H1 i H4, (w tym linii rodzicielskich populacji L318 x L9, której pierwszą mapę genetyczną skonstruowałam podczas realizacji pracy doktorskiej) i 16 historycznych odmian żyta. Panel ten został następnie zastosowany do wykonania genotypowania wspomnianych wyżej obiektów, czego efektem było zidentyfikowanie 1022 polimorficznych markerów DArT. Następnie na podstawie wyników genotypowania wykonałam analizę relacji genetycznych między badanymi liniami wsobnymi i odmianami. Badania te zobrazowały znaczne

zróznicowanie linii wsobnych (potwierdzając rezultaty uzyskane wcześniej przy pomocy markerów odwołujących się do sekwencji mikrosatelitarnych (H1) i retrotranspozonów (H4)), ale wykazały równocześnie zaskakującą jednorodność historycznych odmian żyta, mimo iż reprezentowały one różne rejony geograficzne – wynik ten znalazł potwierdzenie w późniejszych, znacznie obszerniejszych badaniach poświęconych zróznicowaniu genetycznemu żyta (H5).

Kolejnym krokiem było wykorzystanie potencjału nowopowstałego narzędzia – panelu do genotypowania żyta metodą DArT – do stworzenia mapy genetycznej nowej generacji, o gęstości umożliwiającej praktyczne jej wykorzystanie, np. do precyzyjnej lokalizacji rejonów genomu zawierających geny warunkujące wybrane cechy i identyfikacji blisko sprzężonych z nimi markerów. Po wykonaniu genotypowania zidentyfikowałam 1965 markerów DArT różnicujących linie rodzicielskie i segregujących w rekombinacyjnych liniach wsobnych stanowiących populację mapującą L318 x L9. Dodatkowo przeprowadzono genotypowanie zestawu pszeniczno-żytnich linii addycyjnych Chinese Spring/Imperial. Pozwoliło to na ustalenie lokalizacji chromosomalnej 1872 markerów DArT, co w późniejszym etapie badań – podczas konstrukcji mapy genetycznej – znacząco ułatwiło przypisywanie grup sprzężeń zawierających markery DArT do poszczególnych chromosomów żyta. Ostatecznie na nowej mapie genetycznej umieszczono 1818 markerów DArT, a średnia gęstość mapy wyniosła 2,68 cM. W momencie publikacji była to najbardziej nasycona mapa genetyczna żyta, składająca się wyłącznie z sekwencyjnie specyficznych, transferowalnych markerów DNA.

Wyniki uzyskane w ramach tego projektu potwierdziły, że markery DArT są efektywnym narzędziem do analizy genomu żytniego, a wytworzone podczas niego zasoby (panel zmienności) i pozyskane informacje (o lokalizacji markerów DArT na mapie genetycznej) szybko okazały się przydatne dla innych badaczy zajmujących się genomiką zbóż – np. podczas tworzenia panelu do genotypowania metodą DArT pszenżyta (Badea i wsp., 2011) i podczas konstrukcji mapy sprzężeń tego gatunku (Tyrka i wsp., 2011).

Następnym etapem prac nad rozwijaniem narzędzi genomicznych dla żyta było skonstruowanie przy wykorzystaniu markerów DArT zintegrowanej mapy genetycznej żyta o bardzo wysokiej gęstości (H3). Projekt ten był realizowany we współpracy z naukowcami z Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Podczas kolejnego pobytu w Diversity Arrays Technology wykonałam genotypowanie 564 rekombinacyjnych linii wsobnych z pięciu populacji mapujących, w tym populacji L318 x L9, wykorzystanej uprzednio do stworzenia pierwszej mapy genetycznej żyta bazującej na markerach DArT (H2). Liczba markerów segregujących w poszczególnych populacjach wahała się od 1689 do 2281. Ostatecznie na mapie zintegrowanej znalazło się 4048 markerów DArT. W porównaniu do poprzednio opublikowanej konsensusowej mapy żyta, bazującej głównie na markerach RFLP i RAPD (Gustafson i wsp., 2009) osiągnięto 8-krotne zwiększenie liczby *loci*, a w odniesieniu do wyników poprzedniego projektu (H2) ponad dwukrotnie zwiększono liczbę zmapowanych markerów DArT. Wytworzono w ten sposób bardzo cenne narzędzie genomiczne dla badaczy i hodowców zajmujących się nie tylko żytem, ale także pszenżytem. Potencjalne zastosowania obejmują między innymi użycie mapy zintegrowanej bazującej na markerach DArT jako mapy referencyjnej przy konstrukcji map genetycznych nowych populacji mapujących, a także podczas mapowania asocjacyjnego do oceny poziomu nierównowagi sprzężeń. Obecnie mapa ta wykorzystywana jest w badaniach zmierzających w perspektywie do integracji mapy genetycznej i fizycznej żyta, obejmujących kotwiczenie klonów biblioteki BAC na mapie genetycznej przy zastosowaniu genotypowania DArT (Bolibok-Brągoszewska i wsp., 2015, III A 20).

Opracowanie wysokoprzepustowej technologii genotypowania dla żyta i skonstruowanie przy wykorzystaniu tej technologii bardzo nasyconej mapy genetycznej otworzyło możliwość przeprowadzenia wielkoskalowej i dogłębnej analizy zróżnicowania genetycznego żyta, bazującej na bardzo dużej liczbie *loci* rozproszonych wzdłuż całego genomu. Badania te były przedmiotem ostatniej pracy składającej się na przedstawiane osiągnięcie (H5). Jednym z kluczowych elementów tego projektu było zgromadzenie dużej i możliwie reprezentatywnej kolekcji obiektów z gatunku *Secale*. W kolekcji tej znalazło się łącznie 379 obiektów: (i) 306 obiektów z kolekcji Centrum Zachowania Bioróżnorodności-Ogrodu Botanicznego PAN w Powsinie, w tym: historyczne odmiany uprawne żyta pochodzące z różnych rejonów świata, formy uprawiane nie będące zarejestrowanym odmianami (ang. *cultivated materials*) i formy nie będące zarejestrowanym odmianami uprawiane lokalnie (ang. *landraces*), również reprezentujące różne rejony geograficzne, a także 17 dzikich gatunków żyta, ponadto (ii) 37 współczesnych, znajdujących się aktualnie w doborze odmian uprawnych od środkowoeuropejskich firm hodowlanych i 26 rodów hodowlanych z firmy Danko Hodowla Roślin Sp. z o.o., oraz (iii) 10 obiektów, głównie odmian, z kolekcji prof. A. Łukaszewskiego (University of California, Riverside). Dzięki takiemu doborowi materiału roślinnego możliwa była ocena zróżnicowania genetycznego reprezentowanego przez materiały z banku genów, jak również zbadanie zróżnicowania genetycznego obecnych aktualnie na rynku środkowoeuropejskim odmian żyta, w tym również odniesienie jej do zróżnicowania materiałów z kolekcji *ex situ*. Należy również podkreślić, że była to najliczniejsza kolekcja obiektów żyta poddana charakterystyce markerami molekularnym.

Analizy DNA roślinnego metodą DArT zostały wykonane podczas kolejnego pobytu badawczego w Diversity Arrays Technology. Wśród markerów różnicujących badane materiały zidentyfikowałam 1054 markery o znanej lokalizacji chromosomalnej. Na podstawie uzyskanych profili genetycznych przeprowadziłam, m. in. analizę struktury populacji, analizę klasteryzacyjną oraz analizę głównych współrzędnych.

Badania te pokazały, że aktualnie znajdujące się w doborze odmiany żyta są do siebie bardzo zbliżone pod względem genetycznym, a jednocześnie są wyraźnie odrębne od pozostałych przebadanych obiektów, co wskazuje na duży potencjał zasobów genowych z kolekcji *ex situ* w odniesieniu do poszerzania zmienności genetycznej we współczesnych programach hodowlanych. Ponadto odnotowana została niewielka korelacja pomiędzy zaobserwowaną strukturą zróżnicowania genetycznego a pochodzeniem geograficznym badanych obiektów, co pozostaje w zgodności z dostępnymi informacjami na temat historii hodowli żyta, mówiącymi o intensywnej wymianie materiałów pomiędzy programami hodowlanymi w różnych częściach świata.

Innym interesującym efektem tej pracy było wykazanie, że źródło pochodzenia materiałów (np. bank genów, firmy hodowlane) jest jednym z głównych czynników wpływających na strukturę populacji. Taki stan rzeczy może być odzwierciedleniem sposobu reprodukcji materiału roślinnego stosowanego przez różne ośrodki, jednakże potwierdzenie tej hipotezy będzie wymagało dodatkowych analiz - jest to jeden z wątków badawczych, które będą podjęte w ramach niedawno rozpoczętego, kierowanego przeze mnie projektu badawczego NCN Sonata BIS 4 (I I12).

Dzięki wykorzystaniu do genotypowania kolekcji obiektów z rodzaju *Secale* panelu DArT zawierającego kilka tysięcy markerów o określonej lokalizacji chromosomalnej możliwe było również przeprowadzenie porównania poziomu polimorfizmu DNA dla poszczególnych chromosomów, u poszczególnych grup badanych obiektów (np. dzikich gatunków, odmian historycznych, odmian współczesnych), jak i pomiędzy tymi grupami. Uzyskane wyniki sugerują, iż regiony genomu zlokalizowane na chromosomie 6R poddane

zostały silnej presji selekcyjnej podczas udomowiania żyta, natomiast we współczesnych programach hodowlanych selekcja nakierunkowana jest na regiony genomu zlokalizowane na chromosomach 1R i 4R.

Profile genetyczne badanych obiektów, uzyskane w ramach tego projektu zostały upublicznione i mogą być wykorzystywane przez naukowców i hodowców. Można się spodziewać, że wyniki tych badań przyczynią się do przyspieszenia wdrożenia programów hodowlanych efektywnie wykorzystujących zasoby banków genów.

W podsumowaniu, za najważniejsze dokonania prac składających się na osiągnięcie naukowe uważam:

1. Szczegółową ocenę efektywności różnych markerów DNA generowanych w reakcji PCR w wykrywaniu zróżnicowania genetycznego żyta – ułatwienie wyboru narzędzi badawczych dla naukowców nie mających dostępu do wysokoprzepustowych technologii genotypowania (H1).
2. Wykazanie, że analizy zróżnicowania przeprowadzone na podstawie niewielkiej liczbie przypadkowo wybranych *loci* o nieznanym położeniu w genomie nie dostarczają wiarygodnych informacji o faktycznej strukturze zróżnicowania genetycznego badanych obiektów (H1).
3. Wyizolowanie z genomu żyta fragmentu nowej sekwencji retrotranspozonowej typu LTR i opracowanie w oparciu o nią systemu markerów retrotranspozonowych –SSAP umożliwiającego precyzyjne analizy filogenetyczne z względu na stabilny charakter insercji tych elementów ruchomych (H4).
4. Stworzenie panelu zmienności do genotypowania żyta metodą DArT – wdrożenie pierwszej wysokoprzepustowej metody genotypowania dla tego gatunku (H2).
5. Skonstruowanie pierwszej mapy genomu żyta o dużej gęstości przy pomocy 1818 transferowalnych i sekwencyjnie specyficznych markerów DArT - (H2).
6. Ustalenie lokalizacji chromosomalnej 1872 markerów DArT przy pomocy pszeniczno-żytnich linii addycyjnych (H2).
7. Stworzenie konsensusowej mapy genomu żyta o wysokiej gęstości (1,1 cM) przy wykorzystaniu 5 polskich populacji mapujących – zlokalizowanie na mapie genetycznej 4048 *loci* DArT (H3).
8. Zbadanie struktury populacji i zróżnicowania genetycznego w obszernej kolekcji form żyta przy pomocy wcześniej stworzonych zasobów i narzędzi genomowych (H5).
9. Wykazanie niewielkiej korelacji pomiędzy zaobserwowaną strukturą zróżnicowania genetycznego żyta i pochodzeniem geograficznym badanych obiektów oraz wykazanie niewielkiego zróżnicowania genetycznego współczesnych odmian żyta z rejonu Europy Centralnej (H5).
10. Opisanie różnic w poziomie polimorfizmu pomiędzy regionami genomu leżącymi na różnych chromosomach i wskazanie rejonów genomu żyta, które prawdopodobnie poddane zostały presji selekcyjnej podczas udomowienia i we współczesnych programach hodowlanych (H5).

Literatura:

- Badea, A., Eudes, F., Salmon, D., Tuvešson, S., Vrolijk, A., Larsson, C.-T., Caig, V., Huttner, E., Kilian, A., Laroche, A., 2011. Development and assessment of DArT markers in triticale. *Theor. Appl. Genet.* 122, 1547–60.
- Bednarek, P.T., Masojć, P., Lewandowska, R., Myśków, B., 2003. Saturating rye genetic map with amplified fragment length polymorphism (AFLP) and random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *J. Appl. Genet.* 44, 21–33.

- Bolibok, H., Gruszczyńska, A., Hromada-Judycka, A., Rakoczy-Trojanowska, M., 2007. The identification of QTLs associated with the *in vitro* response of rye (*Secale cereale* L.). Cell. Mol. Biol. Lett. 12, 523–535.
- Bolibok-Brągoszewska, H., Targońska, M., Gawroński, P., Makowska, B., Rakoczy-Trojanowska, M., Stojałowski, S., Uszyński, G., Kilian, A., 2015. Rye DArT arrays effectively anchor BACs onto genetic map. Eucarpia Cereals Section. International Conference on Rye Breeding and Genetics, Wrocław, Poland 24th - 26th June, 2015. p. 80.
- Dolezel, J., Greilhuber, J., Lucretti, S., Meister, A., Lysak, M.A., Nardi, L., Obermayer, R., 1998. Plant genome size estimation by flow cytometry: Inter-laboratory comparison. Ann. Bot. 82, 17–26.
- FAO, 2010. The Second Report on the State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome.
- Flavell, R.B., Bennett, M.D., Smith, J.B., Smith, D.B., 1974. Genome size and the proportion of repeated nucleotide sequence DNA in plants. Biochem. Genet. 12, 257–269.
- Gråsten, S.M., Juntunen, K.S., Poutanen, K.S., Gylling, H.K., Miettinen, T.A., Mykka, H.M., 2000. Rye bread improves bowel function and decreases the concentrations of some compounds that are putative colon cancer risk markers in middle-aged women and men. J. Nutr. 130, 2215–2221.
- Gupta, P.K., Rustgi, S., Mir, R.R., 2008. Array-based high-throughput DNA markers for crop improvement. Heredity. 101, 5–18.
- Gustafson, J.P., Ma, X.-F., Korzun, V., Snape, J.W., 2009. A consensus map of rye integrating mapping data from five mapping populations. Theor. Appl. Genet. 118, 793–800.
- Hackauf, B., Rudd, S., van der Voort, J.R., Miedaner, T., Wehling, P., 2009. Comparative mapping of DNA sequences in rye (*Secale cereale* L.) in relation to the rice genome. Theor. Appl. Genet. 118, 371–84.
- Holma, R., Hongisto, S., Saxelin, M., Korpela, R., 2010. Constipation is relieved more by rye bread than wheat bread or laxatives without increased adverse gastrointestinal effects. J. Nutr. 140, 534–541.
- Jaccoud, D., Peng, K., Feinstein, D., Kilian, A., 2001. Diversity Arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. Nucleic Acids Res. 29, e25.
- Khlestkina, E.K., Than, M.H.M., Pestsova, E.G., Röder, M.S., Malyshev, S. V., Korzun, V., Börner, A., 2004. Mapping of 99 new microsatellite-derived *loci* in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags. Theor. Appl. Genet. 109, 725–32.
- Komisja Europejska, 2013. Wspólnotowy Katalogu Odmian Roślin Uprawnych – wydanie 32. Dziennik Urzędowy Uni Europejskiej 56, 1–720.
- Korzun, V., Malyshev, S., Voylov, A. V., Börner, A., 2001. A genetic map of rye (*Secale cereale* L.) combining RFLP, isozyme, protein, microsatellite and gene *loci*. Theor. Appl. Genet. 102, 709–717.
- Ma, R., Yli-Mattila, T., Pulli, S., 2004. Phylogenetic relationships among genotypes of worldwide collection of spring and winter ryes (*Secale cereale* L.) determined by RAPD-PCR markers. Hereditas 140, 210–221.
- Pearce, S.R., Stuart-Rogers, C., Knox, M.R., Kumar, A., Ellis, T.H.N., Flavell, A.J., 1999. Rapid isolation of plant Ty1- copia group retrotransposon LTR sequences for molecular marker studies. Plant J. 19, 711–717.
- Persson, K., Díaz, O., von Bothmer, R., 2001. Extent and patterns of RAPD variation in landraces and cultivars of rye (*Secale cereale* L.) from northern Europe. Hereditas 134, 237–43.
- Persson, K., von Bothmer, R., 2002. Genetic diversity amongst landraces of rye (*Secale cereale* L.) from northern Europe. Hereditas 136, 29–38.
- Tyrka, M., Bednarek, P.T., Kilian, A., Wędzony, M., Hura, T., Bauer, E., 2011. Genetic map of triticale compiling DArT, SSR, and AFLP markers. Genome 54, 391–401.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych.

Pracę naukowo-badawczą rozpoczęłam podczas studiów na kierunku Ogrodnictwo na Akademii Rolniczej w Lublinie w laboratoriach kultur *in vitro* Katedry Genetyki i Hodowli

Roślin Ogrodniczych jako członek koła naukowego prowadzonego przez dr Piotra Dziadczyka. Wyniki przeprowadzonych eksperymentów dotyczących reakcji roślin na stres zasolenia zostały przedstawione na 6-tej międzynarodowej studenckiej Konferencji Naukowej w Gdańsku (Dyrda i wsp., 1998, pkt. III B1 w Wykazie opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych). Badania te kontynuowałam wykonując pod kierunkiem dr Piotra Dziadczyka pracę magisterską pt. „Selekcja i ocena w warunkach *in vitro* form truskawki (*Fragaria x ananassa* Duch.) o zwiększonej odporności na zasolenie”. Wyniki przeprowadzonych eksperymentów zostały przedstawione w dwóch publikacjach: Dziadczyk i wsp. 2003 (II A1) oraz Bolibok i wsp. 2001 (II D1).

W roku 2000 podjęłam studia doktoranckie w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, w Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin pod kierunkiem prof. dr hab. Moniki Rakoczy-Trojanowskiej. Celem moich badań było zidentyfikowanie *loci* warunkujących reakcję niedojrzałych kwiatostanów i niedojrzałych zarodków żyta w kulturach *in vitro*.

Podczas realizacji badań wykorzystałam znajomość roślinnych technik *in vitro* do przeprowadzenia oceny fenotypowej reakcji w kulturze *in vitro* rekombinacyjnych linii wsobnych z populacji L318 x L9. Jednocześnie wkroczyłam w świat analiz DNA – wykonałam przeglądanie biblioteki genomowej w wektorze fagowym w celu zidentyfikowania nowych motywów mikrosatelitarnych w genomie i przeprowadziłam genotypowanie osobników populacji mapującej markerami SSR, ISSR, a także opracowanymi na potrzeby tego projektu markerami SAMPL. Skonstruowałam pierwszą mapę genetyczną populacji L318 x L9 i zlokalizowałam na niej 9 *loci* ilościowych warunkujących reakcję żyta w kulturze *in vitro*. Podczas studiów doktoranckich współuczestniczyłam również w przygotowaniu dwóch publikacji przeglądowych dotyczących, odpowiednio, charakterystyki markerów DNA oraz mapowania *loci* cech ilościowych warunkujących reakcję roślin w kulturach *in vitro*: Rakoczy-Trojanowska i Bolibok 2004 (II A2) i Bolibok i Rakoczy-Trojanowska 2006 (II A3). Pracę doktorską pt. „Analiza molekularna reakcji w kulturze *in vitro* niedojrzałych zarodków i niedojrzałych kwiatostanów żyta ozimego (*Secale cereale* L.) przy użyciu markerów mikrosatelitarnych” obroniłam w roku 2004 z wyróżnieniem. Uzyskane wyniki przedstawiono w dwóch publikacjach naukowych: Bolibok et al. 2006 (II A4) oraz Bolibok i wsp. 2007 (II A5).

Po ukończeniu studiów doktoranckich nadal współuczestniczyłam w badaniach nad genetycznym podłożem reakcji żyta w kulturach *in vitro* - w ramach projektu MNiI, którego byłam kierownikiem (II I3). Przy zastosowaniu metody GDDSC i wykorzystaniu oceny fenotypowej rekombinacyjnych, którą wykonałam podczas realizacji pracy doktorskiej, wyizolowano oraz scharakteryzowano sekwencyjnie i ekspresyjnie fragmenty genomu żyta potencjalnie związane z reakcją w kulturze *in vitro* (Hromada-Judycka i wsp. 2010, II A6).

Mój dorobek badawczy związany z roślinnymi kulturami *in vitro* oraz zastosowaniem markerów DNA zaowocował zaproszeniem do współautorstwa rozdziału w monografii podsumowującego wykorzystywanie markerów DNA w kulturach *in vitro* do monitorowania zmienności somaklonalnej/weryfikacji tożsamości genetycznej roślin uzyskanych w procedurach mikrorozmnażania i roślin uzyskanych z tkanek poddawanych krioprezerwacji (Teixeira da Silva i wsp. 2007, II D2). Współuczestniczyłam również w przygotowaniu pracy przeglądowej podsumowującej dostępne informacje o genetycznym podłożu reakcji żyta w kulturach *in vitro* (Targońska i wsp. 2013, II A10).

Jednocześnie rozwijałam zainteresowanie genomiką strukturalną. Uczestniczyłam w badaniach, które doprowadziły do zidentyfikowania markerów DArT silnie sprzężonych z genem *Rfc1*, odpowiedzialnym za przywracanie płodności u żyta ze sterylizującą cytoplazmą typu C (Stojałowski i wsp. 2012, II A7), oraz do zidentyfikowania i zlokalizowania na mapie genetycznej wysokiej gęstości *loci* warunkujących aktywność alfa-

amylazy (Myśków i wsp. 2012, II A8). Zaangażowana byłam również w projekt naukowy, który doprowadził do ustalenia lokalizacji chromosomalnej genu *ms8* warunkującego męską sterylność u papryki i znalezienia sprzężonych z nim markerów DNA (Bartoszewski i wsp. 2012, II A9).

Współuczestniczyłam również w obszernym badaniu zróżnicowania genetycznego dużej kolekcji form żyta, do którego wykorzystano markery SSR. Badanie to potwierdziło, że materiały pochodzące z banku genów są wyraźnie odrębne od współczesnych odmian uprawnych. Uzyskane wyniki wskazują również na zawężanie się puli genowej w programach hodowlanych żyta (Targońska i wsp. 2015, II A12). Wykazaliśmy również, że stosunkowo niewielka liczba starannie wybranych markerów SSR o wysokiej zdolności wykrywania polimorfizmu (wysoka wartość PIC) i reprezentujących wszystkie chromosomy (od 2 do 4 markerów SSR z każdego chromosomu) umożliwia wiernie odzwierciedlenie struktury zróżnicowania genetycznego u żyta – uzyskano wyniki bardzo zbliżone do uzyskanych uprzednio przy pomocy ponad tysiąca markerów DArT (H5). Zatem zestaw markerów SSR wykorzystany w tej pracy może być z powodzeniem stosowany do analiz zróżnicowania genetycznego przez badaczy pozbawionych dostępu do wysokoprzepustowych metod genotypowania.

W ostatnich latach moja działalność naukowa jest w dużej mierze związana z charakterystyką i eksploatacją biblioteki BAC linii wsobnej żyta L318 - między innymi wdrożyłam i zoptymalizowałam metodę przeglądania biblioteki BAC przy wykorzystaniu strategii 3-wymiarowych pul zbiorczych. Wstępne wyniki tych prac były przedstawione na dwóch konferencjach naukowych (Bolibok-Brągoszewska i wsp. 2013, III B16 ; Bolibok-Brągoszewska i wsp. 2015, III B20). Badania te miały również kluczowe znaczenie dla poznania pełnej sekwencji genów *ScBx* kontrolujących biosyntezę kwasów hydroksamowych u żyta (Bakera i wsp. 2015, II A11). To narzędzie badawcze będzie również szeroko wykorzystywane w rozpoczętym w sierpniu 2015, kierowanym przeze mnie projekcie NCN Sonata BIS 4 pt. „Wpływ selekcji na genom rośliny uprawnej - identyfikacja i charakterystyka sekwencji, na które nakierowana była presja selekcyjna w trakcie udomowienia i hodowli żyta (*Secale cereale* L.)”.

Sumaryczny *impact factor* wszystkich dotychczasowych publikacji, których jestem współautorką wynosi 33,260 według wartości z roku publikacji i 38,262 według wartości dla roku 2014. Po odliczeniu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe te wartości wynoszą odpowiednio 20,034 i 20,985. Suma punktów MNiSW dla publikacji według roku opublikowania wynosi 415 (493 według listy z roku 2014). Po odliczeniu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe te wartości wynoszą odpowiednio 268 i 328.

W trakcie dotychczasowej kariery zawodowej uczestniczyłam lub aktualnie uczestniczę w realizacji 11 projektów badawczych (w tym 5 jako kierownik), odbyłam 6 zagranicznych staży naukowych, byłam współautorką 25 doniesień konferencyjnych (ustnych lub plakatów), prowadziłam zajęcia z 15 przedmiotów na 8 kierunkach studiów, byłam promotorką 14 prac licencjackich/inżynierskich lub magisterskich, a także zrecenzowałam 23 oryginalne prace badawcze dla 13 czasopism naukowych.

Anna Bolibok-Brągoszewska
Bc