

Załącznik 3

AUTOREFERAT

dr Agnieszka Sutkowska

**Katedra Hodowli Roślin i Nasiennictwa
Wydział Rolniczo-Ekonomiczny
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
ul. Łobzowska 24, Kraków**

Kroków 2016

POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE/ ARTYSTYCZNE –
Z PODANIEM NAZWY MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA

1988- **magister biologii** - Wydział Geograficzno-Biologiczny Wyższej Szkoły Pedagogicznej w Krakowie (obecnie Uniwersytet Pedagogiczny).

Praca magisterska pt. „Zmiany w obrazie krwi obwodowej myszy wywołane działaniem Diazepamu”, przygotowana pod kierunkiem prof. dr. hab. Henryka Lacha.

2003- **doktor nauk biologicznych** - Instytut Botaniki, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Praca doktorska pt. „Wykorzystanie markerów molekularnych DNA w badaniach nad wybranymi gatunkami rodzaju *Bromus*”, przygotowana pod kierunkiem prof. dr. hab. Andrzeja Joachimiaka.

INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH
NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH.

- a) **1989–1997** – zatrudnienie na etacie młodszego asystenta w Pracowni Cytogenetyki i Genetyki Molekularnej Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii Akademii Medycznej w Krakowie (obecnie Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie-Prokocimiu),
- b) **1998–2004** – zatrudnienie na stanowisku asystenta w Katedrze Hodowli Roślin i Nasiennictwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie,
- c) **od 2004** – zatrudnienie na stanowisku adiunkta w Katedrze Hodowli Roślin i Nasiennictwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie.

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.):

CYKL PUBLIKACJI POWIĄZANYCH TEMATYCZNIE

Tytuł osiągnięcia:

Rola migracji w ewolucji i rozmieszczeniu geograficznym wybranych gatunków rodzaju *Bromus* podrodz. *Festucaria*.

Prace oryginalne

A1. Sutkowska A. and Mitka J.: RAPD analysis points to Old World *Bromus* species as ancestral to New World subgen. *Festucaria*. 2008. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 50(2): 117–125.

IF: 0,351, MNiSW:20, cytacje: 7 (wg Web of Science: 2, dodatkowo inne źródła: 5)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu jej koncepcji, zaplanowaniu i wykonaniu badań molekularnych, interpretacji wyników badań, napisaniu rozdziałów: wstęp, materiał i metody oraz wyniki w części dotyczącej badań molekularnych i dyskusji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 80%.

A2. Sutkowska A., Pasierbiński A., Warzecha T., Mandal A., Mitka J.: Refugial pattern of *Bromus erectus* in Central Europe based on ISSR fingerprinting. 2013. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 55(2): 107–119.

IF: 0,612, MNiSW : 20, cytacje: 0 (wg Web of Science : 0, dodatkowo inne źródła: 0)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu jej koncepcji, zaplanowaniu i wykonaniu badań molekularnych, interpretacji wyników badań, napisaniu rozdziałów: wstęp, materiał i metody oraz wyniki w części dotyczącej badań molekularnych i dyskusji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 55%.

A3. Sutkowska A., Pasierbiński A., Warzecha T., Mitka J.: Multiple cryptic refugia of forest grass *Bromus benekenii* in Europe as revealed by ISSR fingerprinting and species distribution modelling. 2014. Plant. Syst. Evol. 2014. 300:1437–1452.

IF: 1,422, MNiSW: 20, cytacje: 4 (wg Web of Science:2 , dodatkowo inne źródła:2)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu jej koncepcji, zaplanowaniu i wykonaniu badań molekularnych, interpretacji wyników badań, napisaniu rozdziałów: wstęp, materiał i metody oraz wyniki w części dotyczącej badań molekularnych i dyskusji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 57%.

A4. Sutkowska A., Pasierbiński A., Bąba W., Warzecha T., Mitka J.: Additivity of ISSR markers in natural hybrids of related forest species *Bromus benekenii* and *B. ramosus* (Poaceae). 2015. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 57(1): 82–94.

IF: 0,730, MNiSW: 20, cytacje (wg Web of Science: 0, dodatkowo inne źródła: 0)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu jej koncepcji, zaplanowaniu i wykonaniu badań molekularnych, interpretacji wyników badań, napisaniu rozdziałów: wstęp, materiał i metody oraz wyniki w części dotyczącej badań molekularnych i dyskusji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 60%.

Rozdział w monografii

A6. Sutkowska A., Mitka J., Glimos E. and Warzecha T.: Phylogenetic relations among selected species of genus *Bromus*, subgenus *Festucaria* (Poaceae). In: Red. Ludwik Frey (ed.) Biological issues in grasses. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Krakow 2007, 169 – 179.

MNiSW: 5 cytacje: 2 (wg Web of Science:0, dodatkowo inne źródła:2)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu jej koncepcji, zaplanowaniu i wykonaniu badań molekularnych, interpretacji wyników badań, napisaniu rozdziałów: wstęp, materiał i metody oraz wyniki w części dotyczącej badań molekularnych i dyskusji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 60%.

(Liczbę cytacji wyżej wymienionych prac podałam bez autocytacji.)

Bibliometryczne dane dotyczące cyklu publikacji wskazanych jako jednotematyczny cykl stanowiący moje dzieło.

Sumaryczny IF: 3,115 (zgodnie z rokiem publikacji).

Liczba punktów wg Listy A i B MNiSW: 85 (punktacja aktualna).

Liczba cytacji (bez autocytacji): wg Web of Science - 4

WoS oraz inne źródła:- 13

Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników.

Tytuł osiągnięcia:

Rola migracji w ewolucji i rozmieszczeniu geograficznym wybranych gatunków rodzaju *Bromus* podrodz. *Festucaria*.

Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuowałam badania z zastosowaniem metod molekularnych nad rodzajem *Bromus* L. (stokłosa), który Stebbins (1981) podzielił na siedem jednostek w randze podrodzaju: *Bromus*, *Stenobromus*, *Festucaria*, *Ceratochloa*, *Neobromus*, *Nevskiella* i *Boissiera*. Swoją uwagę skoncentrowałam na podrodzaju *Festucaria* - najbardziej skomplikowanym pod względem genetycznym i filogenetycznym taksonem. Grupuje on gatunki o różnych stopniach ploidalności, reprezentujące trzy genomy różniące się wielkością i strukturą chromosomów. Dociekania filogenetyczne utrudnia dodatkowo skomplikowany wzór geograficznego rozmieszczenia poszczególnych genomów. Nieustabilizowany system taksonomiczny i bogate zróżnicowanie gatunkowe jest główną przyczyną niewielkiego zainteresowania tym niezwykle ciekawym i ważnym dla poznania ewolucji traw podrodzajem. W związku z tym brak jest prac nad pochodzeniem i niewiele nad zróżnicowaniem gatunków podrodzaju *Festucaria* występujących na terenie Europy. Zagadnieniami zróżnicowania *Bromus* zajmowali się w Polsce Frey (1973, 2000), Mirek i wsp. (1995) i Mizianty (1995), a podstawy taksonomiczne rodzaju ustalili Stebbins (1981) i Armstrong (1983).

Gatunki stokłós podrodzaju *Festucaria* zajmują zróżnicowane siedliska (od muraw kserotermicznych po wilgotne siedliska leśne). Biorąc pod uwagę postulowany ostatnio ewolucyjny konserwatyzm nisz ekologicznych (*niche conservatism*), możliwe jest istnienie różnych scenariuszy dotyczących czasu i dróg ich migracji po ustąpieniu ostatniego zlodowacenia. Z tego powodu analizy filogeograficzne z zastosowaniem markerów molekularnych wnoszą nowe informacje do badań nad holocenią historią europejskich traw, nie tylko z tego podrodzaju, ale całej rodziny Poaceae.

W swoich badaniach szczególną uwagę zwróciłam na zagadnienia związane z rozmieszczeniem geograficznym podrodzaju *Festucaria*, gdyż w moim przekonaniu migracje gatunków i czwartorzędowe zlodowacenia odegrały kluczową rolę w historii tego taksonu. Wyjaśnienia wymagały powiązania filogenetyczne między gatunkami Starego i Nowego Świata oraz holocenią historią gatunków podrodzaju *Festucaria*. W swoich badaniach

zwróciłam uwagę na obydwie zagadnienia, z położeniem większego nacisku na zagadnienie najnowszej historii podrodzaju.

Biogeograficzne aspekty filogenezy podrodzaju *Festucaria*

Badania koniugacji chromosomów w mejozie prowadzone przez Stebbinsa (1981) oraz Armstronga (1983) wykazały, że w podrodzaju *Festucaria* występują trzy genomy oznaczane jako A, B i L. Gatunki o genomach A i B posiadają małe chromosomy i występują w Eurazji, z wyjątkiem *Bromus pumellianus*, który występuje w Ameryce Północnej. Przedstawiciele genomu L (o dużych chromosomach) to gatunki Nowego Świata oraz dwa euroazjatyckie: *B. ramosus* i *B. benekenii*.

Dla gatunków euroazjatyckich podawane są różne stopnie ploidalności, a rozmieszczenie genomów A i B między nimi nie jest ostatecznie rozstrzygnięte (A1). Warto w tym miejscu zaznaczyć, że flora Eurazji posiada trzy gatunki diploidalne: *Bromus variegatus*, charakteryzujący się szerokim zasięgiem geograficznym, oraz *B. moesiacus* i *B. parilicus*, których występowanie ograniczone jest do nielicznych stanowisk na Półwyspie Bałkańskim (Kožuharov i wsp. 1981). Dostępność materiału do badań w przypadku dwóch gatunków bałkańskich jest niewielka i z tego powodu nie były one ujęte w moich badaniach. Armstrong (1987) ponadto zidentyfikował okazy diploidalnego *B. riparius* z populacji kaukaskiej oraz pojedynczego osobnika *B. erectus* o cytotypie diploidalnym, pochodzącego z obszaru Niziny Węgierskiej. Okazów tych gatunków również nie udało się pozyskać do badań.

Systematyka rodzaju mierzy się z pytaniami dotyczącymi wzajemnych relacji poszczególnych genomów. Najważniejszymi, nierozwiązanymi problemami w podrodzaju *Festucaria* było ustalenie pochodzenia genomu L oraz poznanie związków filogenetycznych między gatunkami Starego i Nowego Świata. Stebbins (1981) sformułował hipotezę głoszącą, że przodkiem genomu L mógł być genom A lub B. Badania z wykorzystaniem plastydowego DNA przeprowadzone przez Pillaya i Hilu (1995) nie rozstrzygnęły tych kwestii. Z kolei analizy rDNA (często stosowane w badaniach filogenetycznych) przeprowadzone przez Pillaya (1996) wykazały wysoki konserwatyzm tych sekwencji i pozwoliły jedynie na rozróżnianie podrodzajów w obrębie rodzaju *Bromus*.

W związku z powyższym w swoich badaniach zastosowałam metody molekularne pozwalające na analizę wysoce polimorficznych obszarów DNA jądrowego, zarówno kodujących, jak i niekodujących (metoda RAPD – *random amplified polymorphic DNA*), oraz sekwencji związanych z mikrosatelitarnym DNA (ISSR - *inter-simple sequence repeat*).

Markery te były stosowane w licznych badaniach filogenetycznych, np. w rodzaju *Poa* (Garson i wsp. 2007, Arslan i Tamkoç 2011), *Cornus* (Shil i in. 2010), *Zaluzianskya* (Archibald i wsp. 2004), *Tolpis* (Archibald i wsp. 2006). Powyższe metody pozwalają także na określenie genetycznej zmienności wewnątrzgatunkowej, przydatnej w badaniach populacyjnych.

Aby zweryfikować hipotezę Stebbinsa o pochodzeniu genomu L z genomów A lub B, poddałam analizie molekularnej gatunki euroazjatyckie, w tym diploidalny *Bromus variegatus* ($2n=14$) oraz poliploidy: *B. erectus*, *B. inermis*, *B. riparius*, *B. cappadocicus*, *B. biebersteinii*; amerykański gatunek o genomie typu AB - *B. pumpellianus*; diploidy Nowego Świata: *B. ciliatus* i *B. anomalus*; poliploidy: *B. auleticus*, *B. parodii*; euroazjatyckie gatunki z genomem L: *B. ramosus* i *B. benekenii*. Dla zapewnienia powtarzalności wyników wykorzystywałam rośliny reprezentujące czyste genetycznie gatunki wyhodowane z nasion, które sprowadziłam z USDA Plant Introduction Station, Pullman, WA, U.S.A.

Kluczowym problemem w kontekście pochodzenia „amerykańskiego” genomu L było wskazanie wśród gatunków Starego Świata taksonu reprezentującego genom B. Istnieją dobrze udokumentowane dane, świadczące o tym, że *Bromus erectus* jest autotetraploidem, reprezentującym genom A, natomiast dotychczasowe poszukiwania gatunku o genomie B nie przyniosły rezultatów, gdyż małe chromosomy genomów A i B są trudne do odróżnienia, a analizy rDNA i cpDNA nie dały jednoznacznych wyników. Rozróżnienie tych dwóch genomów możliwe jest jedynie na podstawie analizy koniugacji chromosomów w mejozie u ich sztucznych mieszańców (Armstrong 1977a, 1977b, 1979, 1981). Podjęłam zatem próbę odszukania przedstawiciela genomu B wśród gatunków euroazjatyckich, w oparciu o wyniki uzyskane na podstawie analizy wysoce polimorficznych markerów molekularnych.

Przeprowadzone przeze mnie badania na reprezentatywnej grupie gatunków Starego i Nowego Świata wskazały, że euroazjatycki *Bromus variegatus* jest prawdopodobnie diploidalnym przedstawicielem genomu B. Dowodzi tego analiza markerów zarówno ISSR (A5), jak i RAPD (A1), która ujawniła brak związków między *B. variegatus* i *B. erectus*, reprezentującym genom A. Ponadto pozycja *B. inermis* (zawierającego zarówno genom A jak i B) w analizach numerycznych wskazuje na jego pochodzenie od tych dwóch gatunków. Stwierdziłam także, że gatunek ten zajmuje pozycję ancestralną w stosunku do gatunków Nowego Świata, posiadających genom L (A1). Na tej podstawie wysunęłam wniosek, że obecny stan wiedzy potwierdza hipotezę Stebbinsa, iż gatunki podrodz. *Festucaria*, występujące w Nowym Świecie (np. *B. ciliatus*), wywodzą się od gatunków Starego Świata. Moje badania dowiodły, że genom L powstał w Eurazji i najprawdopodobniej wywodzi się z

genomu B, którego przedstawicielem mógł być diploidalny *B. variegatus*. Wskazuje na to pozycja *B. variegatus* na wygenerowanych dendrogramach, gdzie gatunek ten tworzy grupę wyjściową w stosunku do wszystkich badanych gatunków z genomem L (A1, A5).

Bromus ciliatus, podobnie jak kompleks leśnych gatunków *B. ramosus*-*B. benekenii*, posiada genom L, a ponieważ kompleks ten występuje w Eurazji, gdzie rodzaj *Bromus* powstał i różnicował się, przyjęłam, że *B. ciliatus* pochodzi z Eurazji i miał wspólnego przodka z *B. ramosus* i *B. benekenii*. Wyniki przeprowadzonych przeze mnie badań potwierdzają tę hipotezę; kompleks *B. ramosus* – *B. benekenii* utworzył wspólny kład z gatunkami Nowego Świata, w tym z *B. ciliatus* (A1, A5).

Migracja *Bromus ciliatus* (i być może gatunków pokrewnych) ze Starego do Nowego Świata była, moim zdaniem, kluczowym momentem w ewolucji gatunków posiadających genom L. Zdarzenia te mogły mieć miejsce w pliocenie, kiedy to, zdaniem Stebbinsa (1981), podrodzaj *Festucaria* rozprzestrzenił się z Eurazji do Afryki i Nowego Świata. Konsekwencją tej migracji było powstanie szeregu diplo- i poliploidów, posiadających genom L, występujących współcześnie w Nowym Świecie.

Migrację z Eurazji na kontynent amerykański odbył prawdopodobnie również *Bromus pumpellianus*, reprezentujący genomy A i B. Jego bliskie pokrewieństwo z *B. inermis* (Stebbins 1981, Sutkowska i Mitka 2005, A1) sugeruje, że powstał on w Eurazji, skąd migrował do Nowego Świata. Współcześnie w Eurazji nie występuje na stanowiskach naturalnych. Na obecnym etapie badań nie można jednoznacznie wskazać przyczyn tej migracji ani wyjaśnić, dlaczego nie występuje obecnie w Starym Świecie.

Prezentowane powyżej wyniki badań rozwiązują trzy główne problemy filogenetyczne w obrębie podrodzaju *Festucaria*. Po pierwsze, potwierdzają wcześniejszą hipotezę Stebbinsa (1981), że genom L powstał w Eurazji. Po drugie, wskazują, że euroazjatycki *Bromus variegatus*, reprezentujący prawdopodobnie genom B, mógł być przodkiem niektórych amerykańskich przedstawicieli genomu L. Po trzecie, dowodzą, że *B. ciliatus*, reprezentujący genom L, wywodzi się z Eurazji i prawdopodobnie odbył migrację do Nowego Świata, gdzie dał początek pozostałym przedstawicielom genomu L. W tym kontekście europejski kompleks *B. benekenii* – *B. ramosus* może być uważany za reliktowy.

Holocenna historia *Bromus erectus* i *Bromus benekenii* w Europie

Pomimo że rodzaj *Bromus* jest ważnym elementem flory europejskiej i to właśnie tutaj miały miejsce kluczowe etapy ewolucji podrodzaju *Festucaria*, brak jest szczegółowych

opracowań filogeograficznych tego taksonu. Postanowiłam więc podjąć badania holocenijskiej historii dwóch gatunków podrodzaju *Festucaria*: *Bromus erectus* i *B. benekenii*. Gatunki te zajmują skrajnie odmienne siedliska, co daje podstawę do przypuszczenia, że reprezentują odmienne wzorce migracji postglacjalnych.

Kluczem do zrozumienia postglacjalnej historii gatunków jest wskazanie obszarów refugialnych, w których mogły one przetrwać epokę lodowcową i następnie rozprzestrzenić się w holocenie. Przyjmuje się, że ostojami preglacjalnej flory leśnej były obszary położone w odpowiednio dużej odległości na południe od czoła lodowca (półwyspy: Apeniński, Iberyjski i Bałkański), gdzie wpływ surowego klimatu peryglacjalnego był ograniczony. W przypadku gatunków ciepłolubnych za refugialne przyjmuje się obszary śródziemnomorskie (Kornaś i Medwecka-Kornaś 2002). Obok refugium glacialnych największe znaczenie w odbudowie zasięgów flory w okresach interglacjalnych i postglacjalnym posiadała długodystansowa migracja, przebiegająca według rozpoznanych wzorców (Hewitt 1999, Taberlet i wsp. 1998).

Ostatnio coraz częściej rozważa się możliwość istnienia północnych, lokalnych ostoi (kryptorefugium) gatunków leśnych. Określenie „północne” nie dotyczy obszaru Skandynawii, lecz położenia na północ od „tradycyjnych” refugium południowoeuropejskich. Mogły one być zlokalizowane stosunkowo blisko łądolodu, w miejscach o szczególnie łagodnych warunkach klimatycznych (Stewart i Lister 2001) i mogły mieć znaczący wpływ na współczesne zasięgi geograficzne drzew i krzewów w środkowej Europie (Willis i wsp. 2000, Petit i wsp. 2003).

Celem przeprowadzonych badań była identyfikacja potencjalnych kryptorefugium w środkowo-zachodniej Europie, w których *Bromus erectus* i *B. benekenii* mogły przetrwać ostatnie zlodowacenie plejstocenijskie oraz skąd i jakimi szlakami mogły w holocenie rozszerzyć swój zasięg. Gatunki te rosną w odmiennych warunkach siedliska przyrodniczego: *B. benekenii* jest gatunkiem mezofilnych lasów liściastych, *B. erectus* jest składnikiem muraw kserotermicznych.

Obszar badań terenowych obejmował Polskę, Czechy, Słowację, Węgry, Austrię, Rumunię, Czarnogórę, Słowenię, Włochy, Francję i Niemcy reprezentowany przez 37 stanowisk *Bromus erectus* i 42 stanowiska *B. benekenii*.

Dla identyfikacji potencjalnych refugium *Bromus erectus* i *B. benekenii* w czasie maksimum ostatniego zlodowacenia (LGM *Last Glacial Maximum*) obok analiz populacyjno-genetycznych zastosowano techniki modelowania nisz klimatycznych i potencjalnego zasięgu

badanych gatunków w tym okresie (SDM *Species Distribution Modeling*) (A2, A3). Geograficzny podział zmienności genetycznej i wyniki modelowania zasięgów geograficznych *B. erectus* i *B. benekenii* były podstawą prawdopodobnych scenariuszy czwartorzędowej historii badanych gatunków.

Filogeografia *Bromus erectus*

Opracowane w trakcie badań modele nisz klimatyczno-siedliskowych wskazały obszar przyśródziemnomorski jako główną ostoję *Bromus erectus* w okresie ostatniego LGM. Dodatkowo wskazały, że ostoje gatunku mogły również znajdować się dalej na północ w środkowej Europie. Interpretacja wskaźników zróżnicowania genetycznego populacji wskazuje na istnienie refugium *B. erectus* na terenie Włoch, Francji, Słowenii oraz Rumunii i Węgier. Stwierdziłam również odrębność genetyczną populacji na Wyżynie Czesko-Morawskiej, co sugeruje jej reliktowy, kryptorefugialny charakter.

Bromus erectus tworzy dwie grupy genetyczne: atlantycko-śródziemnomorską i panońsko-bałkańską. Odpowiadają one syntaksonomicznemu podziałowi muraw kserotermicznych klasy *Festuco-Brometalia* na dwa rzędy *Brometalia erecti* i *Festucetalia valesiacae* (Medwecka-Kornaś i Kornaś 1977). Podział ten dodatkowo podkreśla ujawniony podczas analiz statystycznych gradient zmienności genetycznej, przebiegający w kierunku południe–północ (spadek zmienności o 4,32% na 1 stopień szerokości geograficznej) oraz wschód–zachód (spadek zmienności o 3,85% na 1 stopień długości geograficznej). W przypadku *B. erectus* gradient ten najprawdopodobniej wyznacza kierunki postglacjalnej migracji gatunku do środkowej Europy.

W obrębie grupy panońsko-bałkańskiej zidentyfikowałam podgrupę obejmującą część populacji z terenu Niemiec, wywodzącą się z Moraw. Obszar ten został wcześniej wskazany jako przypuszczalne kryptorefugium buka (Magri i wsp. 2006). Jednocześnie zaobserwowałam znaczny spadek zmienności molekularnej w populacjach niemieckich, co prawdopodobnie wynika z ich młodego wieku („efekt założyciela”), a spotęgowany został współczesną fragmentacją siedlisk, wynikającą z gospodarczej działalności człowieka.

Uzyskane przez mnie wyniki badań dowodzą, że ostoje glacialne kserotermicznego *Bromus erectus* mogły istnieć nie tylko w cieplejszych obszarach Europy południowej, ale również dalej na północ, przede wszystkim na Nizinie Węgierskiej i na Wyżynie Czesko-Morawskiej. Z refugium południowo-europejskich *B. erectus* rozprzestrzenił się do wyższych

szerokości geograficznych, zgodnie z modelem migracji długodystansowej, natomiast z „północnych” kryptorefugiów rozprzestrzenił się bardziej lokalnie, np. do Niemiec.

Filogeografia *Bromus benekenii*

Badania palinologiczne prowadzone od wielu dziesięcioleci ustaliły klasyczny wzorzec południowoeuropejskich, długotermiowych leśnych refugiów. Od niedawna sugerowane jest również istnienie nierozpoznanych dotychczas kryptorefugiów w środkowej Europie, w których mogły znaleźć schronienie ciepłolubne gatunki drzew i krzewów z rodzajów *Betula*, *Quercus*, *Corylus*, *Ulmus* i *Tilia* (Willis i wsp. 2000, Brewek i wsp. 2002). O ile istnieje bogata literatura dotycząca występowania tych gatunków podczas późnego glacjału i holocenu w Europie środkowej (Ralska-Jasiewiczowa i wsp. 2003, 2004; Latałowa i wsp. 2004) informacja dotycząca leśnych gatunków zielnych jest nader skąpa. Przeprowadzone przeze mnie badania nad *B. benekenii* w części zapełniają tę lukę (A3).

Połączenie modelownia niszy klimatycznej SDM i informacji odnośnie struktury genetycznej populacji leśnego gatunku wskazały obszary południowej i południowo-zachodniej Europy oraz Bałkany jako prawdopodobne ostoje *Bromus benekenii* w okresie maksimum ostatniego zlodowacenia. Przeprowadzone przeze mnie badania molekularne pozwoliły na wyróżnienie trzech grup genetycznych, związanych z różnymi regionami geograficznymi: 1) Wyżyna Czesko-Morawska, Średniogórze Niemieckie i populacje bałkańskie 2) Europa Zachodnia, Półwysep Apeniński i środkowo-zachodnia Polska 3) Karpaty i południowa Polska. Na tej podstawie można było zrekonstruować hipotetyczne kryptorefugia i szlaki migracyjne gatunku. Cechy refugiów wykazywały populacje zlokalizowane we Francji (Masyw Centralny) oraz z północnych Włoch i Półwyspu Bałkańskiego. Ostatnie odpowiadają potwierdzonym refugiom drzew leśnych. Dodatkowo refugia najprawdopodobniej znajdowały się w Europie centralnej w obszarze Wyżyny Czesko-Morawskiej, w Karpatach Wschodnich (Rumunia) oraz Zachodnich (Słowacja i prawdopodobnie Pieniny). W przeciwieństwie do nich populacje z Niemiec i centralnej Polski mają charakter wtórny i powstały na skutek holocenijskiej, postglacjalnej migracji z obszarów refugialnych.

Przeprowadzone przeze mnie badania molekularne pozwoliły również wyznaczyć szlaki postglacjalnej migracji *Bromus benekenii* na terenie Europy. Jeden z nich prowadził z południowego zachodu, prawdopodobnie z ostoi czesko-morawskiej. Drugi szlak prowadził z

ostoi w Masywie Centralnym na wschód. Kolejny szlak wiódł pasem wyżyn Europy Środkowej, ze wschodu na zachód, z refugium bałkańskich.

Wykazałam po raz pierwszy zróżnicowanie genetyczne i odmienne pochodzenie tego gatunku w Polsce. Populacje znajdujące się w zachodniej i środkowej Polsce pochodzą z ostoi zachodnioeuropejskich, natomiast znajdujące się w południowej Polsce należą do grupy karpackiej, co wskazuje pośrednio na istnienie kryptorefugium *B. benekenii* w tym paśmie górskim. W ten sposób obszar Polski (części niżowej i górskiej) jawi się jako typowy genetyczny tygiel (*genetic melting pot*), w którym krzyżują się różne szlaki migracji polodowcowej gatunków leśnych. Przeprowadzone przeze mnie badania filogeograficzne nad leśnym gatunkiem zielnym (*Bromus benekenii*) po raz pierwszy udokumentowały to zjawisko, wcześniej przewidywane teoretycznie (Szafer i Zarzycki 1972, Kornaś i Medwecka-Kornaś 2002).

Analiza naturalnej strefy mieszańcowej utworzonej przez *Bromus ramosus* i *B. benekenii*.

W trakcie zbioru materiałów w terenie, w ramach badań opisanych powyżej, napotymano populacje utworzone przez osobniki mieszańcowe *Bromus ramosus* × *B. benekenii*. Ich gatunki rodzicielskie są poliploidami o różnej liczbie chromosomów: *B. ramosus* jest alloheksaploidem, a *B. benekenii* autotetraploidem.

Hybrydyzacja jest uważana za jeden z istotnych czynników ewolucji, w tym również traw (Abbot i wsp. 2013, Arnold 1997, Mallet 2007, Stebbins 1981), gdyż może być źródłem różnorodności genetycznej, a co za tym idzie, nowych adaptacji (Archibald i wsp. 2004, Arnold 1997).

W literaturze dotyczącej hybrydyzacji zachodzącej w naturalnych populacjach opisywane są zwykle mieszańce między gatunkami o takiej samej liczbie chromosomów (homoploidy) lub między diplo- i tetraploidami. Do rzadkości należą przykłady hybrydyzacji dotyczącej gatunków poliploidalnych o różnej liczbie chromosomów.

Głównym celem moich badań była weryfikacja hipotezy o mieszańcowym charakterze osobników pochodzących z populacji w północnej części Francji, ustalonej na podstawie danych morfologicznych. Ponadto podjęłam próbę porównania zmienności genetycznej form rodzicielskich ze zmiennością przypuszczalnych mieszańców.

Materiałem do badań były osobniki *Bromus ramosus*, *B. benekenii* oraz ich naturalne mieszańce. W trakcie badań terenowych pobrano materiał zielnikowy niezbędny do

przeprowadzenia analizy morfologicznej. Rośliny, z których pobierano materiał, nie zostały trwale uszkodzone i na każdej z nich pozostawiono część pędów kwiatostanowych, by zapewnić ich dalszy rozwój i rozsiewanie nasion. Osobniki mieszańcowe odnalezione na badanym obszarze były mieszańcami osieroconymi, gdyż w ich populacjach nie stwierdzono obecności gatunków rodzicielskich (A4). Zweryfikowane taksonomicznie mieszańce poddałam analizie molekularnej w celu określenia ich związków genetycznych z gatunkami rodzicielskimi.

Przeprowadzone badania potwierdziły odrębny status genetyczny *Bromus ramosus* i *B. benekenii* (A1, A5). Mieszańce *B. ramosus* × *B. benekenii* w analizie kladystycznej zajmowały pozycję pośrednią między gatunkami rodzicielskimi. Zarazem wykazały większe genetyczne powinowactwo z *B. ramosus*, co sugeruje introgresję w kierunku tego gatunku (A4). Obydwa badane gatunki różnią się także stopniem zmienności wewnątrzgatunkowej, a zmienność mieszańców przyjmuje wartości pośrednie między taksonami rodzicielskimi.

Jak wspomniałam na wstępie, naturalne mieszańce *Bromus benekenii* i *B. ramosus* nie były wcześniej genetycznie badane. Rangę moich badań podnosi również fakt, że dotyczą one gatunków poliploidalnych, różniących się stopniem ploidalności. Zgodnie z moją wiedzą, nie były dotychczas analizowane naturalne strefy mieszańcowe utworzone przez poliploidy o różnych liczbach chromosomów. Prezentowane badania wnoszą więc dodatkowy aspekt poznawczy dotyczący wiedzy na temat zjawiska hybrydyzacji zachodzącej w warunkach naturalnych.

Podsumowanie osiągniętych wyników w/w prac

Za główne osiągnięcie przeprowadzonych przeze mnie badań molekularnych rodzaju *Bromus*, podrodzaj *Festucaria*, które zawarłam w przedstawionym powyżej cyklu powiązanych tematycznie publikacji, uważam wskazanie kilku problemów dotyczących ewolucji rodzaju *Bromus* podrodz. *Festucaria* w Nowym i Starym Świecie oraz wykazanie roli holocenijskich migracji w ukształtowaniu wzorca zmienności genetycznej wybranych gatunków podrodzaju w Europie Środkowej.

1. Wskazałam jako prawdopodobne, że genom L powstał w Eurazji, skąd migrował do Nowego Świata i że wywodzi się z genomu B.
2. Wskazałam jako prawdopodobne, że diploidalnym przedstawicielem genomu B w Eurazji jest *Bromus variegatus*.

3. Przedstawiłam wyniki wskazujące, że występowanie *B. pumpellianus* na kontynencie amerykańskim jest prawdopodobnie konsekwencją jego migracji z Eurazji.

4. Potwierdziłam po raz pierwszy istnienie północnych kryptorefugiów *Bromus erectus* i *B. benekenii* w Europie Środkowej oraz odtworzyłam drogi ich postglacjalnej migracji z refugiów glacialnych.

5. Potwierdziłam mieszańcowy charakter osobników *B. ramosus* × *B. benekenii* powstałych ze skrzyżowania poliploidów o różnej liczbie chromosomów i ustaliłam, że gatunki rodzicielskie różnią się stopniem zmienności wewnątrzgatunkowej, a zmienność mieszańców wykazuje wartości pośrednie.

Cytowana literatura

Abbott R., Albach D., Ansell S., Arntzen J.W., Baird S.J.E., Bierne N. et al. 2013. Hybridization and speciation. *J. Evol. Biol.* 26: 229–246.

Archibald J.K., Wolfe A.D. Johnson S.D. 2004. Hybridization and gene flow between a day- and night-flowering species of *Zaluzianskya* (Scrophulariaceae s.s., tribe *Manuleeae*), *Am. J. Bot.* 91(9): 1333–1344.

Archibald J.K., Crawford D.J., Santos-Guerra A., Mort M.E. 2006. The utility of automated analysis of Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) loci for resolving relationships in the Canary Island species of *Tolpis* (Asteraceae). *Am. J. Bot.* 93(8): 1154–1162.

Arslan E., Tamkoç A. 2011. The application of ISSR-PCR to determine the genetic relationship and genetic diversity between narrow leaved bluegrass (*Poa angustifolia*) and rough bluegrass (*Poa trivialis*) accessions *Turk. J. Biol.* 35: 415–423

Armstrong K.C. 1977a. Chromosome pairing in hybrids from *Bromus erectus* (2n=28) × *B. inermis* (2n=56). *Can. J. Genet. Cytol.* 15: 427–436.

Armstrong K.C. 1977b. Karyotypic models for the A and B genomes of *Bromus inermis*. *Z. Pflanzenzücht.* 78: 244–252.

Armstrong K.C. 1979. A and B genome homoeologies in tetraploid and octoploid cytotypes of *Bromus inermis*. *Can. J. Genet. Cytol.* 21: 65–71.

Armstrong K.C. 1981. The evolution of *Bromus inermis* and related species of *Bromus* sect. *Pnigma*. *Bot. Jahrb. Syst.* 102: 427–443.

Armstrong K.C. 1983; The relationship between some Eurasian and American species of *Bromus* section *Pnigma* as determined by the karyotypes of some F1 hybrids. *Can. J. Bot.* 61: 700–707.

Armstrong K.C. 1987. Chromosome numbers of perennial *Bromus* species collected in the USSR. *Canadian Journal of Plant Science* 87: 267–269.

- Arnold M.L. 1997. Natural hybridization and evolution. Oxford University Press, New York, Oxford.
- Brewer S., Cheddadi R., Beaulieu de J.L., Reille M. and Data contributors. 2002. The spread of deciduous *Quercus* throughout Europe since the last glacial period. *Forest Ecol. Manage.* 156: 27–48.
- Carson T.D., White D.B., Smith A.G. 2007. Distinguishing creeping bluegrass (*Poa annua* var. *reptans*) genotypes using intersimple sequence repeat markers. *HortScience* 42: 373–377.
- Dangi R.S., Lagu M.D., Choudhary L.B., Ranjekar P.K., Gupta V.S. 2004. Assessment of genetic diversity in *Trigonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR and RAPD markers. *BMC Plant Biology* 4: 13, doi: 10.1186/1471-2229-4-13.
- Frey L. 1973. Niektóre problemy z kariologii i systematyki traw w Polsce. *Wiad. Bot.* 17(3): 151–161.
- Frey L. 2000. Trawy Niezwyčajzone (wybrane zagadnienia z historii, taksonomii i biologii Poaceae). Zakład Systematyki Roślin Naczyniowych, Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, Kraków.
- Hewitt G.M. 1999. Post-glacial recolonization of European biota. *Biol. J. Lin. Soc.* 68: 87–112.
- Kornaś J., Medwecka-Kornaś A. 2002. *Geografia Roślin*. PWN Warszawa.
- Kožuharov S., Petrova A., Ehrendorfer F. 1981. Evolutionary patterns in some brome grass species (*Bromus*, Gramineae) of the Balkan Peninsula. *Bot. Jahrb. Syst.* 102: 381–391.
- Latałowa M., Ralska-Jasiewiczowa M., Miotk-Szpiganowicz G., Zachowicz J., Nalepka D. 2004. *Fagus sylvatica* L. - Beech. In: Ralska-Jasiewiczowa M (ed) Late glacial and Holocene history of vegetation in Poland based on isopollen maps. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków, pp 95–104.
- Magri D., Vendramin G.G., Comps B., Dupanloup I., Geburek T., Gömöry D., Latałowa M., Litt T., Paule L., Roure J.M., Tantau I., Van Der Knaap W.O., Petit R.J., De Beaulieu J.L. 2006. A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences. *New Phytol* 171:199–221.
- Mallet J. 2007. Hybrid speciation. *Nature* 446: 279–283.
- Medwecka-Kornaś A., Kornaś J. 1977. Zespoły stepów i suchych muraw. In: Szafer W., Zarzycki K. [eds.], *Szata roślinna Polski*. I, 352–366. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
- Mirek Z., Piękoś-Mirkowa H., Zając A., Zając M. 1995. Vascular Plants of Poland, a Checklist. *Polish Bot. Stud. Guidebook Series*. 15: 1–308.

- Mizianty M. 1995. Trawy – grupa roślin, która odniosła ewolucyjny sukces. *Wiad. Bot.* 39(1/2): 59–70.
- Petit R.J., Aguinagalde I., Beaulieu J.L., Bittkau C., Brewer S., Cheddadi R., Ennos R., Fineschi S., Grivet D., Lascoux M., Mohanty A., Muller-Starck G., Demesure-Musch B., Palmé A., Pedro Marti J., Rendell S., Vendramin G.G. 2003. Glacial refugia : hotspots but not melting pots of genetic diversity. – *Science* 300 (5625): 1563–1565.
- Pillay M. 1996. Genomic organization of ribosomal RNA genes in *Bromus* (Poaceae). *Genome* 39: 198–205.
- Pillay M. Hilu K.W. 1995. Chloroplast-DNA restriction site analysis in the genus *Bromus* (Poaceae). *Am. J. Bot.* 82(2): 239–249.
- Ralska-Jasiewiczowa M, Nalepka D, Goslar T (2003) Some problems of forest transformation at the transition to the oligocratic/Homo sapiens phase of the Holocene interglacial in northern lowlands of central Europe. *Veget Hist Archaeobot* 12:233–247.
- Ralska-Jasiewiczowa M., Latałowa M., Wasylkowa K., Tobolski K., Madeyska E., Wright Jr H.E., Turner C. 2004. Late glacial and Holocene history of vegetation in Poland based on isopollen maps. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Krakow.
- Shi A., Kantartzi S., Mmbaga M., Chen P. 2010. Development of ISSR PCR markers for diversity study in dogwood (*Cornus* spp.) *Agric. Biol. J. N. Am.*, 1(3): 189–194.
- Stebbins G.L. 1981. Chromosomes and evolution in the genus *Bromus* (Gramineae). *Bot. Jahrb. Syst.* 102: 359–379.
- Stewart J. R., Lister A. M. 2001. Cryptic northern refugia and the origins of modern biota. *Trends Ecol. Evol.* 16: 608–613.
- Sutkowska A., Mitka J. 2005. Molecular PCR-ISSR analysis in *Bromus* subgenus *Festucaria* – preliminary results. In: Frey L. (ed.): *Biology of grasses*. Wyd. W. Szafer Institut of Botany, Polish Academy of Sciences. Kraków
- Szafer W., Zarzycki K. (eds) 1972. *Szata roślinna Polski [Vegetation of Poland]* 1. PWN, Kraków.
- Taberlet P., Fumagalli L., Wust-Saucy A.G., Cossons J.F. 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Mol Ecol* 7:453–464
- Willis K.J., Rudner E. and Sümegi P. 2000. The full-glacial forests of central and south-eastern Europe. *Quatern. Res.* 53: 203–213.

OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO - BADAWCZYCH.

Po zakończeniu studiów podjęłam pracę na stanowisku młodszego asystenta w Laboratorium Cytogenetyki i Genetyki Molekularnej Zakładu Genetyki Medycznej Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii Collegium Medicum UJ (obecnie Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie-Prokocimiu), kierowanym przez prof. dr hab. med. Jacka J. Pietrzyka.

W pracy swej koncentrowałam się na badaniu molekularnego podłoża siatkówczaaka płodowego (nowotwór wieku dziecięcego) oraz fenyloketonurii. We współpracy z Zakładem Immunologii Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie-Prokocimiu prowadziłam nowatorskie badania nad wykrywaniem komórek rakowych krążących we krwi w przypadku raka jelita oraz nad badaniem ekspresji genów HLA-DRA w monocytach indukowanych interferonem g.

Po podjęciu pracy na stanowisku asystenta, na etacie naukowo-dydaktycznym w Katedrze Hodowli Roślin i Nasiennictwa Akademii Rolniczej im. Hugona Kołłątaja w Krakowie (obecnie Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie), zorganizowałam od podstaw pracownię biologii molekularnej. W swej pracy naukowej koncentrowałam się na badaniach filogenetycznych rodzaju *Bromus* oraz *Aconitum*. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych poszerzyłam je o badania filogeograficzne. Prowadziłam również badania nad naturalnymi mieszańcami powstałymi w obrębie tych rodzajów. Z racji pracy na Uniwersytecie Rolniczym prowadziłam także badania molekularne w tej dziedzinie. Dotyczyły one odporności roślin zbożowych na *Fusarium culmorum*, dystansu genetycznego między odmianami *Lolium multiflorum* oraz sztucznie otrzymywanych mieszańców między liniami pszenżyta i żyta.

Pragnę zwrócić uwagę, że w części prac i doniesień konferencyjnych występuję pod nazwiskiem mojego byłego męża: Jasińska.

Dla publikacji w „Human Genetics” oraz „Archivum Immunologiae et Therapia Experimentalis” brak danych na temat współczynnika IF z roku publikacji (czasopisma te były na liście JCR w roku publikacji moich prac). W tym przypadku przyjąłm najstarszy IF.

Osiągnięcia naukowe przed uzyskaniem stopnia doktora

Badania nad molekularnym podłożem fenyloketonurii

Prowadzone przeze mnie badania polegały na poszukiwaniu mutacji genu hydroksylazy fenyloalaninowej (PAH) oraz rozkładu zmutowanego allelu w rodzinach dotkniętych tą chorobą w populacji polskiej. Do badań przesiewowych wykorzystałam hybrydizację metodą dot-blot z użyciem sond molekularnych specyficznych dla mutacji genu PAH, najczęściej spotykanych w populacji Europy Zachodniej. W tak wyselekcjonowanych próbach określałam haplotyp RFLP (ang. *restriction fragment length polymorphism*) metodą Southern-blot. Równocześnie prowadziłam analizy metodą PCR z wykorzystaniem starterów specyficznych dla wybranych mutacji. Badania metodą PCR (ang. *polymerase chain reaction*) początkowo prowadzone były w Niemczech w Institut für Humangenetik der Universität Münster, jednak niezwłocznie, po wprowadzeniu na rynek pierwszych modeli termocyklorów, został on zakupiony do Laboratorium Cytogenetyki i Genetyki Molekularnej i dalsze badania prowadzone już były w Krakowie.

Badania nad genetycznym podłożem fenyloketonurii zaowocowały dwoma doniesieniami na międzynarodowych konferencjach naukowych (IIB1, IIB2) oraz publikacją w prestiżowym czasopiśmie „Human Genetics” (IIA1), na stałe również zostały włączone w diagnostykę tej choroby w Instytucie Pediatrii.

Badania nad molekularnym podłożem chorób nowotworowych

W trakcie pracy w Instytucie Pediatrii koncentrowałam się głównie na badaniach molekularnego podłoża siatkówczaka płodowego (retinoblastoma). Jest to nowotwór wieku dziecięcego, powodowanego przez mutację genu Rb-1. Prowadzone przeze mnie badania polegały na analizie rozkładu zmutowanego allelu w rodzinach z rodzinną postacią retinoblastomy. Badania prowadziłam klasyczną metodą RFLP z wykorzystaniem hybrydizacji DNA oraz metodą RFLP-PCR. Zakres analiz poszerzyłam o markery VNTR (ang. *variable number of tandem repeat*). Przeprowadzone badania pozwoliły na potwierdzenie pochodzenia zmutowanego allelu u dziecka od rodzica, a przede wszystkim na potwierdzenie lub wykluczenie bezobjawowego nosicielstwa mutacji wśród klinicznie zdrowych członków badanych rodzin. Wprowadzona do analiz metoda SSCP (ang. *single-strand conformation polymorphism*) umożliwiła identyfikację zmutowanych eksonów genu Rb-1 zarówno w DNA izolowanego z tkanki guza, jak i krwi chorych pacjentów. Badania te prowadziłam we współpracy z Department of Genetics, Institute for Cancer Research,

Norwegian Radium Hospital, Oslo University Hospital i Zakładem Genetyki i Patomorfologii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie.

Opisane badania zostały przedstawione na 6 krajowych (IIK2-IIK4, IIB6-8) i 3 międzynarodowych (IIB3-IIB5) konferencjach naukowych oraz w 2 publikacjach (IID2, IID3). Zostały również na stałe włączone w diagnostykę tej choroby w Uniwersyteckim Szpitalu Dziecięcym w Krakowie-Prokocimiu.

Uczestniczyłam także w badaniach, których celem było opracowanie metody wykrywania komórek rakowych krążących we krwi pacjenta w okresie okołoperacyjnym. Badania te polegały na ustaleniu wariantu cząsteczki powierzchniowej CD44 w komórkach nowotworowych. Pragnę zaznaczyć, że były to jedne z pierwszych, prowadzonych na świecie analiz cząsteczki CD44 pod kątem diagnostyki raka jelita grubego. Odeszłam z pracy w IP przed zakończeniem badań.

Analiza molekularna linii komórkowych monocytów indukowanych interferonem γ

We współpracy z Zakładem Immunologii Klinicznej Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie-Prokocimiu prowadziłam badania nad wykrywaniem mRNA dla HLA-DR α w liniach komórkowych monocytów, indukowanych interferonem γ . W analizach stosowałam hybrydyzację *in situ* z wykorzystaniem specyficznych sond znakowanych nieradioaktywnie (sulfonylowanych). Badania te prowadziłam na początku lat 90. XX wieku, kiedy powszechnie stosowane było znakowanie sond molekularnych radioaktywnymi izotopami fosforu lub węgla. Zastosowana metoda była nowatorska, pokazywała możliwość wykorzystania hybrydyzacji *in situ* w diagnostyce klinicznej bez konieczności przystosowania laboratorium do pracy z radioaktywnymi izotopami. Wyniki tych badań zostały opublikowane w prestiżowym czasopiśmie „Archiwum Immunologiae et Therapiae Experimentalis” w 1993 roku (IIA2).

Badania antycznego DNA

Pracując w Instytucie Pediatrii, prowadziłam swoje najciekawsze badania – antycznego DNA, który wyizolowałam z fragmentów skóry mumii egipskiej i sudańskiej. W pierwszym przypadku były to zabalsamowane szczątki kapłanki bogini Izydy, Aset-iri-Khet-es. Pochodziły one z El-Gamhud w Środkowym Egipcie i datowane były na okres ptolemejski. Drugim obiektem badań były zmumifikowane w naturalny sposób szczątki z Kassinger Bahri (okolice IV katarakty), datowane na V–VII wiek. Pracując w zespole powołanym do zbadania

mumii egipskiej, uczestniczyłam w spektakularnym, a zarazem wyjątkowym przedsięwzięciu, jakim było rozwijanie mumii.

Izolacja DNA nie była łatwa, a uzyskana próbka z mumii egipskiej była silnie zanieczyszczona substancjami używanymi do balsamowania zwłok (żywice, balsamy, masa bitumiczna itp.). Zastosowaną wówczas metodę dodatkowego oczyszczania DNA stosuję do dzisiaj, do oczyszczania DNA z roślin bogatych w alkaloidy, garbniki czy żywice. Uzyskany DNA w przypadku obu mumii był silnie zdegradowany i możliwa była amplifikacja jedynie krótkich fragmentów. W reakcji PCR zastosowałam startery komplementarne do sekwencji *Alu*, występującej w ludzkim DNA w wielu kopiach, różnej długości. Analiza tej sekwencji pokazała, że stopień degradacji materiału genetycznego był zbliżony u obu mumii, mimo że znacznie różniły się one wiekiem. Podjęłam również próbę określenia metodą molekularną grupy krwi Aset-iri-Khet-es, lecz stopień degradacji DNA pozwalał na amplifikację jedynie niektórych fragmentów istotnych dla tej analizy.

Były to pierwsze (i zgodnie z moją wiedzą jedyne) badania tego typu w Polsce, a ich wyniki przedstawiłam na seminarium poświęconym multidyscyplinarnym badaniom nad mumią Aset-iri-Khet-es (IIK5). Opublikowałam je również jako rozdział w monografii *Results of interdisciplinary examination of the Egyptian mammy of Aset-iri-Khet-es from the Archeological Museum in Cracow* pod redakcją Krzysztofa Babraja i Hanny Szamańskiej z Muzeum Archeologicznego w Krakowie (IID4). Po zakończonych badaniach ponownie zabandażowane szczątki Aset-iri-Khet-es, spoczęły z powrotem w przepięknym sarkofagu, w Muzeum Archeologicznym w Krakowie gdzie można je oglądać do dziś.

Badania molekularne rodzaju *Bromus*

Po podjęciu pracy na Akademii Rolniczej w Krakowie (obecnie Uniwersytet Rolniczy w Krakowie) rozpoczęłam badania filogenetyczne rodzaju *Bromus* (Poaceae) i *Aconitum* (Ranunculaceae).

Rodzaj *Bromus* L. (stokłosa) jest grupą traw o szerokim zasięgu geograficznym. Mirek (1995) podaje 25 gatunków tego rodzaju we florze Polski, przy czym rozróżnia gatunki rodzime i antropofity zadomowione we florze polskiej oraz efemerofity. W obrębie rodzaju *Bromus* spotykane są zarówno gatunki jedno-, dwu-, jak i wieloletnie, o różnych stopniach ploidalności. Z tych też względów systematyka i filogeneza rodzaju cały czas budzi kontrowersje.

Prowadzone przeze mnie badania miały na celu znalezienie markerów molekularnych specyficznych dla podrodzajów i gatunków rodzaju *Bromus* oraz ustalenie związków między

nimi. Zastosowane markery RAPD (ang. *random amplified polymorphic DNA*) pozwoliły mi na realizację tych celów. Zidentyfikowałam szereg produktów PCR specyficznych dla wspomnianych jednostek systematycznych. Ich analiza numeryczna wskazała na wyraźną odrębność podrodzaju *Ceratochloa* i jego związek z podrodzajem *Bromus*, co potwierdza sugerowane przez Stebbinsa (1981) związki filogenetyczne między tymi podrodzajami i dowodzi związków między gatunkami ze Starego i Nowego Świata. Analizy pozostałych badanych gatunków potwierdziły ich przynależność do podrodzajów *Stenobromus* oraz *Festucaria*. W okresie tym prowadziłam również wstępne badania nad pochodzeniem *B. erectus* i *B. inermis* na terenie Polski.

Wyniki badań przedstawiono na 4 konferencjach naukowych (IIK6, IIIB9-10, IIIB18) oraz w 2 oryginalnych pracach badawczych (IIA3, IID5).

Ich kontynuacją była moja praca doktorska po tytule „Wykorzystanie markerów molekularnych DNA w badaniach nad wybranymi gatunkami rodzaju *Bromus* L.”.

Osiągnięcia naukowe po uzyskaniu stopnia doktora

Badania molekularne *Bromus carinatus*

Od niektórych gatunków rodzaju *Bromus* zostały wyprowadzone odmiany hodowlane. Swoje zainteresowania skierowałam na *B. carinatus* cv. ‘Broma’. Przede wszystkim na podstawie analizy wzorów prążkowych *B. carinatus*, *B. willdenowii* i cv. ‘Broma’ zweryfikowałam przynależność gatunkową odmiany ‘Broma’. Ustaliłam, że powinna ona być zaklasyfikowana do gatunku *B. carinatus*, a nie- jak widnieje to na Liście Odmian Roślin Rolniczych COBORU- do *B. willdenowii* = *B. catharticus* = *B. uniolooides*.

Wyniki tych badań przedstawiłam na konferencji (IIK10) oraz w oryginalnej pracy naukowej (IID9).

Prowadziłam również badania biogeograficzne rodzaju *Bromus*. Obejmowały one pochodzenie populacji *Bromus carinatus* w Polsce. Gatunek ten został sprowadzony do Polski przez człowieka jako uprawny, ale, jak wykazały badania, został również przypadkowo zawleczony. Stosując analizę markerów molekularnych ISSR, stwierdziłam interesujące zjawisko: na stanowiskach towarzyszących terenom rolniczym występuje zbiegła z uprawy odmiana ‘Broma’, podczas gdy na siedliskach ruderalnych spotykane są głównie osobniki reprezentujące materiał zawleczony. Jego preferencje siedliskowe oraz spektrum ekologiczne

w naturalnej części zasięgu mogą sprzyjać przenikaniu *B. carinatus* do siedlisk półnaturalnych i naturalnych w Europie (IIDM1). Wykorzystując test Webera i Guta (2004) wykazałam, że jeśli *B. carinatus* przeniknie do siedlisk naturalnych, może stać się gatunkiem inwazyjnym, przy czym szczególnie zagrożone inwazją mogą być zbiorowiska łąkowe polskich gór.

Wyniki badań były przedstawione w 2 publikacjach: IID7, IID9. Ich rezultaty skłoniły mnie również do dalszej analizy problemu występowania *Bromus carinatus* na siedliskach synantropijnych w Polsce. Moje badania wykazały, że kolonizacja siedlisk synantropijnych przez *B. carinatus* zachodziła z różnych populacji naturalnych, także poprzez ucieczkę z upraw odmiany 'Broma'. Uzyskane wyniki badań pokazują także, że może dochodzić do przenikania genotypów z siedlisk synantropijnych do uprawianych odmian, a zjawisko to może przebiegać symetrycznie (IIDM1).

Badania filogenetyczne i fitogeograficzne *Aconikum firmum*

Rodzaj *Aconitum* (tojad) należy do rodziny Ranunculaceae i liczy od 300 do 400 gatunków. Jest przedstawicielem flory umiarkowanej. Występuje w Eurazji, Ameryce Północnej oraz w północnej Afryce. Jedną z cech tojadów jest stosunkowo częste tworzenie form mieszańcowych. Niektórym z nich nadawany jest status nototaksonów (taksonów mieszańcowych). Przykładem jest *Aconitum* × *gayeri*, *A.* × *hebegynum* i *A.* × *czarnohorensis*. Często jest również tworzenie stref mieszańcowych, a w przypadku gatunków rodzicielskich o różnych stopniach ploidalności-, form introgresyjnych.

Badania cytogenetyczne oraz prowadzone przeze mnie analizy molekularne *A. plicatum*, występującego w Sudetach, i *A. firmum* subsp. *maninense* z Karpat Zachodnich ujawniły hybrydyzację na dwóch odległych w czasie poziomach. Pierwszy dotyczył powstania *A. firmum*, który prawdopodobnie wywodzi się od starego, sudeckiego *A. plicatum* i *A. variegatum* lub jego bezpośredniego przodka. Drugi poziom dotyczył późniejszych, postglacjalnych migracji *A. maninense* i *A. plicatum*. Gatunki te spotkały się prawdopodobnie na terenie Bramy Morawskiej, gdzie krzyżowały się, co w konsekwencji doprowadziło do introgresji w kierunku *A. plicatum* i powstania *A. plicatum* subsp. *sudeticum*.

Badania prowadzone były w ramach grantu KBN, 4303/Po4/2001/21, „Geografia fylogenetyczna rodzaju *Aconitum* w Karpatach i Sudetach”. Ich wyniki przedstawiono na międzynarodowym sympozjum (IIIB14) i w oryginalnej pracy badawczej (IIA4).

Badania filogeograficzne gatunków *Aconitum*

Ciekawych informacji dostarczyły badania *Aconitum bucovinense*, gatunku endemicznego dla Karpat Wschodnich i Południowych. Północna granica jego występowania sięga po Bieszczady, gdzie znajdują się dwie populacje, izolowane od siebie i od zasadniczej części zasięgu. Badania molekularne, w których uczestniczyłam, wykazały zmienność w obrębie tych populacji zbliżoną do obserwowanej w głównej części zasięgu, co dowodzi, że populacje bieszczadzkie wywodzą się z położonych dalej na południe i wskazują na efekt założyciela oraz kolejne genetyczne wąskie gardła, które doprowadziły do zubożenia puli genowej populacji ze skrajnego zasięgu. Wyniki badań przedstawiono w oryginalnej publikacji (IIA5).

Przeprowadzone przeze mnie analizy markerów molekularnych ISSR leśnych gatunków tojadów (*Aconitum variegatum* i *A. moldavicum*) wskazują na istnienie ich północnych kryptorefugiów, na wyżynach Polski południowej oraz w Pieninach. Dzięki tym analizom możliwe było także wyznaczenie refugium *Aconitum variegatum* w Beskidzie Śląsko-Morawskim oraz na Wyżynie Śląskiej. Genetycznie były one związane z ostojami czesko-morawskimi, zlokalizowanymi niedaleko Bramy Morawskiej (IID8).

Prowadziłam również wstępne badania molekularne *Aconitum moldavicum*, które wskazały na pochodzenie populacji w Małopolsce od refugium podolskiego na Ukrainie (IID10).

Jak wspomniałam powyżej, częstym zjawiskiem obserwowanym u tojadów jest hybrydyzacja międzygatunkowa. Celem prowadzonych przeze mnie badań molekularnych była analiza zmienności diploidalnych: *Aconitum lasiocarpum* i *A. variegatum* oraz poszukiwanie za pomocą markerów ISSR homoploidalnych form mieszańcowych tych gatunków (*A. ×pawłowskii*). Badania umożliwiły identyfikację czystych form *A. lasiocarpum* i *A. variegatum* oraz ich mieszańców, dowodząc jednocześnie istnienia naturalnej strefy mieszańcowej w Beskidzie Niskim. Homoploidalne mieszańce między tetraploidami: *A. ×nanum* (*A. firmum* × *A. bucovinense*) zidentyfikowałam w Karpatach Południowych i Wschodnich.

Wyniki badań zostały przedstawione w oryginalnej pracy badawczej (IIA7) oraz zgłoszonej do druku (Z3).

Badania mieszańców między gatunkami *Aconitum*

Prowadziłam również badania stref mieszańcowych, utworzonych przez dwa gatunki diploidalne: *A. variegatum*, *A. lasiocarpum* i tetraploidalny *A. firmum* w trzech populacjach zlokalizowanych w Tatrach: w Dolinie Jaworowej (na granicy między Tatrami Bielskimi

i Wysokimi, na Słowacji), Dolinie Małej Łąki i Dolinie Miętusiej (Tatry Zachodnie). Zastosowana w badaniach analiza markerów molekularnych ISSR oraz sekwencjonowanie chloroplastowego DNA (cpDNA) pozwoliły na identyfikację taksonów mieszańcowych oraz wskazanie ich form matecznych: diploidalnego *A. ×pawlowskii* (*A. variegatum* × *A. lasiocarpum*) oraz triploidalnego *A. ×berdau* (*A. variegatum* × *A. firmum*). Stwierdziłam, że hybrydyzacji towarzyszy introgresja, która przebiega w kierunku przeciwnym niż dotychczas obserwowany, tzn. w kierunku od tetraploida do diploida. Ponadto zidentyfikowałam osobniki, których genomy noszą ślady ukrytej hybrydyzacji (*cryptic hybridization*), a w których powstaniu uczestniczyły trzy gatunki o różnych stopniach ploidalności.

Wyniki tych badań przedstawiłam w pracy przyjętej do druku (IID13) oraz dwóch zgłoszonych do druku (Z2 i Z3).

Badania molekularne *Viola tricolor* i *Epipactis palustris* z siedlisk synantropijnych

We współpracy z pracownikami Instytutu Botaniki UJ i PAN w Krakowie prowadziłam badania zmienności i struktury genetycznej populacji *Viola tricolor* na hałdach pogórnich bogatych w metale ciężkie. Kontrolę stanowiły populacje z terenów wolnych od zanieczyszczeń. Uzyskane przeze mnie wyniki wskazują na wyższy polimorfizm w populacjach hałdowych niż naturalnych. Analizy numeryczne wyników moich badań molekularnych wykazały, że wiąże się to z procesami mikroewolucji na poziomie gatunku, które prawdopodobnie prowadzą do powstania ekotypów odpornych na zanieczyszczenia. Wśród populacji z hałd już obecnie można wyróżnić na poziomie molekularnym co najmniej dwa ekotypy: jeden wspólny dla wszystkich hałd, drugi ograniczony do hałdy Trzebionka.

Wyniki badań zmienności *Viola tricolor* zostały przedstawione na zjeździe (IIIB20) oraz w oryginalnej pracy naukowej (IIA6).

Rezultaty przedstawionych badań zainspirowały mnie do przeprowadzenia podobnych analiz u storczyków występujących na terenach przemysłowych, a ich wyniki zawarłam w monografii (IIDM1). Moje badania, wykorzystujące analizy numeryczne, ujawniły, że pomimo antropogenicznych zaburzeń w rozkładzie zmienności, istnieje kilka fal migracyjnych *E. palustris*, kolonizującego tereny przemysłowe. Ujawniły również wysoką zmienność *E. palustris* w populacjach hałdowych. Sugeruje to przewagę rozmnażania generatywnego nad typowym u tego rodzaju rozmnażaniem wegetatywnym. Dowodzi również dobrej kondycji genetycznej *E. palustris* w populacjach synantropijnych.

Kontynuacją badań rodzaju *Viola* była analiza molekularna regeneratów fiołka torfowego (*Viola epipsila* Ledeb.) oraz fiołka mokradłowego (*V. stagnina* Kit.) otrzymanych w kulturach

in vitro. Gatunki te zaliczane są do krytycznie zagrożonych w Polsce. Jedną z metod ochrony gatunków objętych ochroną i zagrożonych wyginięciem jest mikropropagacja z wykorzystaniem kultur *in vitro*. Zastosowane przeze mnie markery molekularne ISSR pozwoliły wykryć zmienność wewnątrzgatunkową (wewnątrz- i międzypopulacyjną) roślin matecznych oraz różnice genetyczne pomiędzy uzyskanymi regenerantami oraz regenerantami i roślinami matecznymi świadczącymi o istnieniu zmienności somaklonalnej (IIIB21, IIIB23).

Badania nad zmiennością i pochodzeniem *Empetrum nigrum* i *Festuca richardsonii* na wyspie Surtsey

We współpracy z zespołem kierowanym przez profesora B. Magnussona z Icelandic Institute of Natural History oraz profesorem Józefem Mitką z Ogrodu Botanicznego UJ w Krakowie prowadzę badania sukcesji pierwotnej na wyspie Surtsey.

Surtsey to mała wyspa powstała na skutek wybuchu wulkanu w 1963 roku na Oceanie Atlantyckim, w odległości 35-40 km od Islandii. Od samego początku objęta była ścisłą ochroną. Roślinność, która zaczęła pojawiać się od 1965 roku, jest systematycznie inwentaryzowana, a wyniki badań są publikowane w ukazującym się cyklicznie raporcie „Surtsey Research Progress Report”. Dzięki całkowitemu zamknięciu wyspy i skrupulatnym badaniom możliwa jest obserwacja sukcesji pierwotnej szaty roślinnej Surtsey. Obecnie zasiedlona jest przez 69 gatunków roślin naczyniowych.

Wyspa Surtsey, jako obszar biogeograficznie izolowany poprzez barierę morską, jest wyjątkowo dogodnym obiektem do poszukiwania i analizy zjawiska zwanego „efektem założyciela”. Możliwa jest również obserwacja kształtowania się zmienności genetycznej u gatunków o różnej biologii rozmnażania.

Prowadzone przeze mnie badania dotyczyły zmienności i pochodzenia dwóch gatunków roślin: *Empetrum nigrum* (bażyna czarna) i *Festuca richardsonii* (kostrzewa arktyczna), które pojawiły się na wyspie odpowiednio w 1993 i 1973 roku. Analizy molekularne przeprowadzone z wykorzystaniem markerów ISSR wykazały, że oba gatunki tworzą dość wyraźne subpopulacje. *E. nigrum* cechuje wysoki polimorfizm wewnątrz subpopulacji i nieco niższy między nimi. Najbardziej odmienne były osobniki występujące w kraterze wulkanu. U *F. richardsonii* różnice między subpopulacjami są bardziej wyraźne. Wysoka zmienność wewnątrz subpopulacji *F. richardsonii* może wynikać z przepływu alleli między osobnikami z różnych subpopulacji. Choć oba gatunki pojawiły się w tym samym obszarze wyspy (kolonia mew), to mają różną historię. *E. nigrum* może być pierwszym pokoleniem

kolonizatorów, podczas gdy *F. richardsonii* pojawiła się wcześniej i zdążyła już rozprzestrzenić się w gęstą murawę. Co więcej, gatunki różnią się formą wzrostu i biologią rozmnażania. *E. nigrum* jest krzewinką rozdzielnopłciową, osiągającą zdolność do rozmnażania generatywnego stosunkowo późno (pierwszą jagodę na osobniku z wyspy Surtsey zaobserwowano w 2012 roku). *F. richardsonii* jest trawą obcopylną, szybko dojrzewającą do rozmnażania generatywnego.

Wyniki badań zostały zaprezentowane na konferencji poświęconej 50-leciu wyspy Surtsey w sierpniu 2013 roku w Reykiaviku na Islandii oraz na konferencji (IIIB12-13). Zostały również opublikowane w „Surtsey Research Progress Report” (IID12), prezentującym wyłącznie wyniki badań prowadzonych na wyspie Surtsey. Z tego powodu SRPR nie jest uwzględniany w ocenie JCR, a ponieważ byłam zobligowana do opublikowania swoich wyników w tym czasopiśmie, wpłynęło to na wysokość sumarycznego współczynnika IF oraz punktacji MNiSW moich publikacji.

Badania oddalonych mieszańców *Triticum timopheevi* i *Secale cereale*

Celem badań było otrzymanie mieszańców między dopełniającymi liniami pszenżyta w systemie cms-*Triticum timopheevi* i dopełniającymi liniami żyta w systemie cms-*Pampa*, a także zbadanie, czy jest możliwe przeniesienie poprzez rekombinację stabilnych genów męskiej sterility, współdziałających z cytoplazmą *Pampa* u żyta, do systemu cms-*T. timopheevi* pszenżyta. Przeprowadzone przeze mnie badania molekularne z wykorzystaniem markerów ISSR potwierdziły możliwość otrzymywania linii męskosterylnych pszenżyta, poprzez rekombinację dopełniających linii pszenżyta i żyta z dwóch różnych systemów męskiej sterility. Ponadto ujawniły rearanżacje w obrębie genomów mieszańcowych, których przejawem były produkty PCR specyficzne dla mieszańców (private bands), a których nie stwierdzono u żadnej z form rodzicielskich.

Wyniki badań zostały przedstawione na międzynarodowej konferencji (IIIB16) i publikowane w „Spanish Journal of Agricultural Research” (IIA8).

Prowadziłam również badania nad odpornością jęczmienia na fuzariozę kłosa. Mój udział w tych badaniach obejmował poszukiwanie markerów molekularnych sprzężonych z odpornością na *Fusarium culmorum* u odmian nieoplewionych i oplewionych *Hordeum vulgare*. Ich celem była ocena odporności linii DH (doubled haploids – podwojone haploidy) jęczmienia na infekcje *Fusarium culmorum* z wykorzystaniem testów bezpośrednich (ocena

porażenia (DR), redukcja świeżej masy liści i korzeni) i parametrów pośrednich (fizjologicznych i biochemicznych).

Badania te pokazały, że linie oplewione charakteryzowały się mniejszą podatnością na infekcje *Fusarium culmorum* wyrażoną nasileniem objawów chorobowych (DR) oraz mniejszą redukcją świeżej masy. Wykazałam, że infekcja spowodowała znaczny wzrost zawartości związków fenolowych w korzeniach, zwłaszcza w genotypach nieoplewionych linii DH. Spowodowała również zmniejszenie ilości cukrów rozpuszczalnych, barwników i obniżenie ogólnej wydajności fotosystemu. Uzyskane wyniki sugerują możliwość zastosowania pośrednich parametrów (fizjologicznych i biochemicznych) w selekcji linii DH jęczmienia odpornych na infekcje *F. culmorum*.

Rezultaty badań zaprezentowane były międzynarodowej konferencji naukowej (IIIB15, IIIB17) oraz zostały opublikowane w prestiżowym czasopiśmie naukowym „Physiological and Molecular Plant Pathology” (IIA2).

Kontynuacją tych badań była analiza zmian aparatów fotosyntezy dwóch linii podwojonych haploidów (DH) jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.), spowodowanych przez infekcję patogennego grzyba *Fusarium culmorum*. Wyniki tych badań przedstawiłam w pracy zgłoszonej do druku (Z4).

Inne prowadzone przeze mnie badania

We współpracy z Instytutem Biologii Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie prowadziłam badania zmienności wewnątrz- i międzypopulacyjnej *Batrachium circinatum*.

Efekty badań przedstawiono na 55. Zjeździe Polskiego Towarzystwa Botanicznego (IIIB21).

We współpracy z panią profesor Marią Krzakową z Wydziału Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu prowadziłam analizy zmienności genetycznej życicy wielokwiatowej. Badania wykonałam w ramach grantu Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi: „Zmienność europejskich populacji *Lolium multiflorum* pod względem genetycznie uwarunkowanych cech biochemicznych i molekularnych oraz ich przydatność użytkowa (nr tematu 93)”.

Wyniki tych badań zostały przedstawione na IX Ogólnopolskim Spotkaniu Naukowym: Biologia Traw (IIIB19).

Badania naukowe prowadzone przeze mnie obecnie i planowane w przyszłości.

Obecnie dalej prowadzę badania kolejnych naturalnych stref mieszańcowych utworzonych przez gatunki rodzaju *Aconitum* w Karpatach. Celem badań jest określenie kierunków przepływu alleli oraz wykrycie ukrytej hybrydyzacji (*cryptic hybridization*). Dzięki zastosowaniu sekwencjonowania cpDNA możliwe będzie wskazanie gatunków matecznych badanych mieszańców.

Kontynuuję badania *Empetrum nigrum*. Ich celem jest wskazanie populacji na Islandii, z których nastąpiła kolonizacja wyspy Surtsey przez ten gatunek.

W ramach grantu NCBiR, PBS3/B8/17/2015 prowadzę badania sztucznie otrzymanych mieszańców kukurydzy i owsa, zmierzające do identyfikacji metodami molekularnymi chromosomów kukurydzy w genomach owsa.

W przyszłości chciałabym w swojej działalności badawczej skupić uwagę na sukcesji pierwotnej na wyspie Surtsey. Ich celem byłaby długoterminowa obserwacja kształtowania się zmienności molekularnej *Empetrum nigrum* i *Festuca richardsoni*. W badaniach chciałabym uwzględnić również inne gatunki roślin występujących na Surtsey.

Planuję rozwiązanie problemu dystrybucji genomu A i B u europejskich poliploidów rodzaju *Bromus*, podrodzaj *Festucaria* (*B. riparius*, *B. cappadocicus*, *B. biebersteinii*). W tym celu chciałabym wykorzystać sekwencjonowanie DNA oraz hybrydyzację na chromosomach metodą GISH.

Hybrydyzację GISH chciałabym także zastosować w badaniu zjawiska hybrydyzacji u naturalnych mieszańców *Aconitum* oraz otrzymanych w warunkach sztucznych *Bromus ramosus* × *B. benekenii*. U mieszańców tych planuję przeprowadzić analizę rearanżacji ich genomów.

