

Agnieszka Marasek-Ciołakowska

TYTUŁ ROZPRAWY

**Hodowla i analiza cytogenetyczna genomu tulipanów mieszańców
Darwina**

AUTOREFERAT

Instytut Ogrodnictwa
Zakład Biologii Ogólnej i Molekularnej
Pracownia Biochemii i Biologii Molekularnej

Skierniewice, 2014 rok

Spis treści

1. Dane personalne	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe.....	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
4. Wskazanie osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego.....	4
5. Systematyczne omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy	5
5.1. Wprowadzenie	5
5.2. Cel badań	7
5.3. Omówienie wyników.....	7
5.4. Podsumowanie jednotematycznego cyklu publikacji	16
5.5. Cytowana literatura	17
6. Przebieg pracy naukowej	20
6.1. Przebieg pracy naukowej w okresie poprzedzającym uzyskanie stopnia doktora	20
6.1.1. Badania nad opracowaniem masowej regeneracji roślin ozdobnych w warunkach <i>in vitro</i> do celów hodowlanych	21
6.1.2. Opracowanie metod rozmnażania gatunków roślin ozdobnych opornie reagujących <i>in vitro</i> na drodze embriogenezy somatycznej	21
6.1.3. Doskonalenie integrowanych metod ochrony roślin ozdobnych przed chorobami ..	22
6.1.4. Badania nad opracowaniem metody hodowli lili w oparciu o krzyżowania form oddalonych i nad odzyskiwaniem zarodków z krzyżowań międzygatunkowych lili przez kultury <i>in vitro</i>	22
6.2. Badania związane z rozprawą doktorską	23
6.3. Przebieg pracy naukowej w okresie po uzyskaniu stopnia doktora	24
6.3.1. Cytogenetyczna i molekularna analiza genomu <i>Brachypodium distachyon</i>	25
6.3.2. Opracowanie metod kontroli jakości (stabilności genetycznej, zdrowotności i statusu fizjologicznego) tulipana rozmnażanego <i>in vitro</i>	25
6.3.3. Cytogenetyczna i molekularna analiza genomów w rodzaju <i>Tulipa</i>	26
6.3.4. Molekularno-cytogenetyczne badania międzygenomowych rekombinacji i introgresji u tulipana	27
6.3.5. Poliploidyzacja meiotyczna w rodzaju <i>Tulipa</i>	28
7. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych	30
7.1. Zestawienie dorobku publikacyjnego przed i po uzyskaniu stopnia doktora.....	30
7.2. Udział i rola w projektach badawczych krajowych i zagranicznych.....	32
7.3. Nagrody za działalność naukową	33
7.4. Wygłoszenie referatów na międzynarodowych lub krajowych konferencjach	34
7.5. Staże i wizyty w ośrodkach polskich i zagranicznych.....	35
7.6. Recenzje wydawnicze prac dla czasopism naukowych	35
7.7. Przynależność do towarzystw naukowych.....	36
8. Podsumowanie dorobku naukowo-badawczego	36

1. Dane personalne

Imię i nazwisko

Agnieszka Marasek-Ciołakowska

Miejsce pracy

Instytut Ogrodnictwa

ul. Konstytucji 3 Maja 1/3

96-100 Skierniewice

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

30.06.1994

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, specjalność fizjologia,

stopień magistra z wynikiem bardzo dobrym

praca magisterska wykonana w Katedrze Cytologii i Cytochemii Roślin Instytutu Fizjologii, Cytochemii i Cytogenetyki pt. „Wpływ chromu na liczbę jader, aktywność mitotyczną oraz długość komórek w plesze *Cladophora* sp.”

promotor: prof. dr hab. Barbara Gabara

04.12.2002

Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach,

stopień doktora nauk przyrodniczych – z wyróżnieniem

praca doktorska pt. „Ocena statusu mieszańców oddalonych *Lilium* metodami markerów chromosomowych i molekularnych”

promotor: prof. dr hab. Teresa Orlikowska

recenzenci: prof. dr hab. Katarzyna Niemirowicz-Szczytt

prof. dr hab. Maria Wędzony

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

15.08.1994 – 06.12.1995

stażysta w Zakładzie Hodowli Roślin Ozdobnych, Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach

06.12.1995 - 5.12.2002

asystent w Zakładzie Hodowli Roślin Ozdobnych, Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach

5.12.2002 – 01.02.2004

adiunkt w Zakładzie Biotechnologii Roślin Ozdobnych, Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach

od 01.02.2004

adiunkt w Zakładzie Fizjologii i Biotechnologii Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa (od 01.01.2011 przekształconego w Instytut Ogrodnictwa) w Skierniewicach; w tym 6 lat (2005-2010) urlop naukowy

01.03.2004-15.09.2004 Post-doc position, Wales University, Wielka Brytania

02.08.2005-01.08.2007 Post-doc position, Niigata University, Faculty of Agriculture, Lab. of Plant Breeding, Niigata, Japonia

01.10.2007-31.10.2011 Post-doc position, Plant Breeding, Wageningen University and Research Centre, Wageningen, Holandia
od 01.12.2010 urlop wychowawczy

4. Wskazanie osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego

Osiągnięciem naukowym wynikającym z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) jest jednotematyczny cykl pięciu publikacji naukowych pt. „Hodowla i analiza cytogenetyczna genomu tulipanów mieszańców Darwina”.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej:

[H1]. **Marasek A.**, Mizuochi H., Okazaki K. 2006: The origin of Darwin hybrid tulips analyzed by flow cytometry, karyotype analyses and genomic *in situ* hybridization. *Euphytica* 151:279-290 (IF 0.907^a; MNiSzW 20^b/30^c; cytowany 12^d)

Indywidualny wkład: wiodący udział w fazie projektowania badań, dostosowanie metody genomowej hybrydyzacji *in situ* (GISH) do genomu *Tulipa*, wykonanie całości pracy eksperymentalnej w zakresie analiz cytogenetycznych mieszańców Darwina przy użyciu GISH, sformułowanie wniosków, przygotowanie wersji roboczej pracy, redakcja ostatecznej wersji pracy (50 %).

[H2]. Mizuochi H., **Marasek A.**, Okazaki K. 2007: Molecular cloning and cytogenetic organization of 5S rDNA and 45S rDNA in *Tulipa gesneriana* and *T. fosteriana*. *Euphytica* 155: 235-248 (IF 1.050^a; MNiSzW 20^b/30^c; cytowany 5^d).

Indywidualny wkład: wiodący udział w fazie projektowania badań, wykonanie całości pracy eksperymentalnej w zakresie analiz cytogenetycznych genomów *Tulipana* przy użyciu metody FISH z sekwencjami rDNA, opracowanie kariogramów dla odmian *T. fosteriana* i *T. gesneriana*, wiodący udział w przygotowaniu wersji roboczej pracy, redakcja ostatecznej wersji pracy (50 %)

[H3]. **Marasek A.**, Okazaki K. 2008: Analysis of introgression of the *Tulipa fosteriana* genome into *Tulipa gesneriana* using GISH and FISH. *Euphytica* 160: 217 – 230. (IF 1.403^a; MNiSzW 20^b/30^c; cytowany 5^d)

Indywidualny wkład: znaczący udział w fazie projektowania badań i opracowaniu koncepcji pracy, wykonanie całości pracy eksperymentalnej w zakresie analiz cytogenetycznych genomu *Purissima* oraz jej mieszańców przy użyciu metody GISH oraz FISH z sondami rDNA, wykonanie kariogramów, przygotowanie wersji roboczej części pracy oraz rola autora korespondencyjnego (80%)

[H4]. **Marasek-Ciolakowska A.**, He H., Bijman P., Ramanna M. S., Arens P., van Tuyl J. M. 2012: Assessment of intergenomic recombination through GISH analysis of F1, BC1 and BC2 progenies of *Tulipa gesneriana* and *T. fosteriana*. *Plant Systematic and Evolution* 298:887–899 (IF 1.312^a; MNiSzW 25^b; cytowany 1^d)

Indywidualny wkład: pomysłodawca, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, wykonanie całości pracy eksperymentalnej w zakresie analiz cytologicznych i cytogenetycznych przy użyciu metody GISH oraz FISH z sondami rDNA, wykonanie

kariogramów, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu, redakcja ostatecznej wersji pracy, autor korespondencyjny (80%)

[H5]. **Marasek-Ciolakowska A**, Xie S., Ramanna M.S., Arens P., van Tuyl J.M.: 2012: Meiotic Polyploidization in Darwin Hybrid Tulips. *Acta Horticulturae* 953:187-192 (uwzględnione w Web of Science, IF 0; MNiSzW 10^b; cytowany 0)

Indywidualny wkład: pomysłodawca, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, wykonanie całości pracy eksperymentalnej, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu, autor korespondencyjny (85%)

a – IF zgodnie z rokiem publikacji

b – liczba punktów dla publikacji naukowych według listy czasopism punktowanych MNiSzW obowiązującej w roku opublikowania

c- liczba punktów za publikacje wg listy MNiSzW obowiązującej w roku 2012

d - na dzień 13.01. 2014r. według bazy Web of Science z pominięciem samocytowań

Sumaryczna liczba punktów za publikacje wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej wg listy MNiSzW obowiązującej w roku opublikowania – 95

Sumaryczna liczba punktów za publikacje wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej wg listy MNiSzW obowiązującej w roku 2012 -125

Sumaryczny IF zgodnie z rokiem publikacji – 4,672

5. Systematyczne omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy

5.1 Wprowadzenie

Rodzaj *Tulipa* obejmuje około 100 gatunków (Hall 1940; Botschantzeva 1962) i ponad 8000 odmian (Van Scheepen 1996). W produkcji ogrodniczej, ze względów ekonomicznym, to niezwykle ważna grupa cebulowych roślin ozdobnych. W Holandii kraju, który jest światowym liderem w produkcji ozdobnych roślin cebulowych, powierzchnia ich uprawy w 2013 roku wynosiła 18701 ha, z czego 10069 ha stanowiła powierzchnia zajęta pod reprodukcję tulipana (BKD, 2013). W 2005 roku kwiaty cebulowe w Polsce – zarówno przeznaczone na reprodukcję cebul jak i na kwiat cięty – zajmowały areał 1000-1200 ha (Jabłońska 2006). Według Buschman (2005) w sezonie 2002/2003 cebule tulipanów w Polsce reprodukowano na powierzchni 200 ha. W ostatnich latach nastąpił w naszym kraju wzrost produkcji tulipanów na kwiat cięty, z 25 ha w 1999 do 45 ha w 2005 roku. Znacznie także poszerzył się asortyment uprawianych odmian (Jabłońska 2006).

Zgodnie z międzynarodowym rejestrem odmian, tulipany są podzielone na 15 grup (Van Scheepen 1996). Pierwsze 9 grup odmian wywodzi się od gatunków *Tulipa gesneriana* (Pojedyncze wczesne, Pełne wczesne, Triumph, Pojedyncze późne, Liliokształtne, Fryzowane (Crispa), Zielonokwiatowe (Viridiflora), Papuzie, Pełne

późne). Dzisiaj nie sposób już ustalić dokładnego pochodzenia tych odmian (Killingback 1990). Pozostałe grupy to: mieszańce Darwina, tulipany Kaufmana wywodzące się od *T. kaufmanniana*, tulipany Fostera pochodzące od *T. fosteriana*, tulipany Greiga wywodzące się od *T. greigii* oraz grupa obejmująca pozostałe gatunki i odmiany botaniczne. Znaczenie historyczne ma grupa tulipanów Rembrandta, które nie są dostępne w handlu.

Tulipany Triumph to obecnie najważniejszą grupą odmian tulipanów uprawianych na kwiat cięty. Drugą grupą handlową pod względem popularności, zarówno w Polsce jak i w Holandii, to odmiany z grupy mieszańców Darwina (DH). Pierwsze mieszańce z tej grupy zostały uzyskane ok. 70 lat temu przez D.W. Lefeber w wyniku krzyżowań międzygatunkowych pomiędzy odmianami *T. gesneriana* i *T. fosteriana* HOOG genotypy ex W. Irving z sekcji Eichleres (Van Tuyl i Van Creij 2006). Większość mieszańców Darwina dostępnych na rynku jest triploidalna ($2n = 3x = 36$), charakteryzuje się dużymi kwiatami i liśćmi, wigorem oraz wysoką odpornością na wirusy. W ciągu ostatnich 50 lat wyhodowano ponad 50 odmian mieszańców Darwina (Van Scheepen 1996), spośród nich najbardziej znane są odmiany 'Apeldoorn', 'Ad Rem', 'Pink Impression', 'Worlds Favourite' and 'Van Eijk' (Van Tuyl i wsp. 2012). W latach osiemdziesiątych dwudziestego wieku powierzchnia upraw w Holandii odmiany 'Apeldoorn' wynosiła 1300 ha, co stanowiło 25% całkowitej produkcji tulipana (Van Tuyl i wsp. 2012). Obecnie, mieszańce Darwina stanowią ok. 10% całkowitej powierzchni upraw tulipana w Holandii (<http://www.bloembollenkeuringsdienst.nl/>). Według Lefeber (1960) pierwsze odmiany mieszańców Darwina 'Lefeber's Favourite' i 'Windsor' zostały otrzymane odpowiednio w wyniku krzyżowań pomiędzy diploidalnymi odmianami 'Copland' × *T. fosteriana* 'Red Emperor' i 'Pride of Haarlem' × 'Red Emperor'. Jednak pomimo dużego znaczenia ogrodniczego mieszańców Darwina, w przypadku większości odmian ich skład genomowy, formy rodzicielskie oraz sposób, w jaki nastąpiła ich poliploidyzacja jest nieznanymi.

Tulipany należą do grupy roślin ozdobnych, podobnie jak *Crocus* (Ørgaard i wsp. 1995), *Narcissus* (Brandham i Kirton 1987), *Lilium* (Van Tuyl i wsp. 2002) i *Alstroemeria* (Ramanna 1992), które zostały poddane zakrojonemu na szeroką skalę procesowi krzyżowań międzygatunkowych oraz selekcji. Istotną rolę w ewolucji tulipana odegrały przede wszystkim rekombinacje międzygenomowe, spontaniczna poliploidyzacja oraz selekcja prowadzona przez hodowców. Prezentowany zbiór publikacji pod wspólnym tytułem „Hodowla i analiza cytogenetyczna genomu

tulipanów mieszańców Darwina” wnosi wiele nowych elementów poznawczych i naukowych w dziedzinę hodowli twórczej tulipana. Badania w nich przedstawione pomagają wyjaśnić źródła zmienności genetycznej, introgresję genów związanych z odpornością na wirusy oraz zjawisko poliploidyzacji mejotycznej w rodzaju *Tulipa*. Były to pierwsze prace badawcze dla rodzaju *Tulipa*, w których podjęto próbę z wykorzystaniem techniki GISH i FISH ujawnienia składu genomowego odmian i mieszańców oraz rekombinacji chromosomowych, jakie powstają w czasie hodowli.

W pracach tych całość badań związana z poliploidyzacją mejotyczną tulipana oraz analizą cytogenetyczną genomów badanych organizmów stanowi zarówno pod względem koncepcyjnym, interpretacyjnym jak i wkładu pracy laboratoryjnej dorobek własny kandydata.

5.2. Cel badań

Celem prezentowanej rozprawy było:

- 1) ustalenie przy użyciu metod cytogenetycznych oraz cytogenetyczno-molekularnych cech chromosomów, które umożliwią identyfikację genomów i poszczególnych chromosomów w mieszańcach Darwina,
- 2) przeanalizowanie konstytucji genomowej mieszańców F1, BC1 i BC2 Darwina, otrzymanych w wyniku krzyżowań genotypów diploidalnych z wykorzystaniem metody genomowej hybrydyzacji *in situ* (GISH),
- 3) manipulowanie poziomem ploidalności w mieszańcach Darwina z wykorzystaniem $2n$ gamet i krzyżowań interploidalnych oraz analiza składu genomowego uzyskanych mieszańców,
- 4) ocenienie znaczenia funkcjonalnych gamet n i $2n$ w hodowli introgresywnej, transmisji chromosomów z translokacjami oraz zmienności genetycznej.

5.3. Omówienie wyników

Publikacja [H1]

Marasek A., Mizuochi H., Okazaki K. 2006: The origin of Darwin hybrid tulips analyzed by flow cytometry, karyotype analyses and genomic *in situ* hybridization. *Euphytica* 151:279-290

Gatunki należące do rodzaju *Tulipa* charakteryzują się znaczącymi różnicami w zawartości jądrowego DNA. Wielkość 2C DNA dla genotypów diploidalnych wynosi od około 32 pg u *T. clusiana* do 69 pg u *T. gesneriana* (Zonneveld 2009). Analizy cytologiczne w rodzaju *Tulipa* ograniczają się do analizy liczby chromosomów oraz barwienia prążków C. Liczba chromosomów została ustalona dla 63 gatunków (Kroon i Jongerius 1986) i ponad 600 odmian tulipana (Zeilinga i Schouten 1968a). Chromosomy tulipana charakteryzują się dużymi rozmiarami. Dla przykładu u triploidalnego gatunku *T. lanata* Regel długość chromosomów wynosi od 13 to 24 μm (Wafai i Koul 1973). Jednak pod względem charakterystyki morfometrycznej chromosomy te są słabo względem siebie zróżnicowane (Southern 1967, Wafai i Koul 1981, 1986, Van Raamsdonk i De Vries 1995). Możliwość identyfikacji chromosomów zwiększyła się w wyniku zastosowania barwienia Giemsa ujawniającego prążki C na chromosomach (Filion 1974; Blakey i Vosa 1981, 1982; Van Raamsdonk i De Vries 1995). Dla przykładu, polimorfizm chromosomów w oparciu o barwienie Giemsa został wykazany u odmian 'Queen of Night' ($2n = 24$) i 'Spring Song' ($2n = 24$) oraz u *T. turkestanica* ($2n = 48$) (Filion 1974).

Publikacja [H1] zawiera opis analizy genomu tulipana wykonanej przy użyciu cytometrii przepływowej, charakterystyki morfometrycznej chromosomów oraz genomowej hybrydyzacji *in situ* (GISH), mających na celu ustalenie cech chromosomów, które umożliwiają identyfikację genomów oraz wyjaśnienie składu genomowego triploidalnych mieszańców Darwina. Morfologia chromosomów była analizowana w diploidalnych odmianach *Tulipa fosteriana* i *T. gesneriana* oraz w triploidalnych mieszańcach Darwina. W oparciu o pomiary całkowitej długości chromosomów oraz ich ramion wyliczono indeks ramion oraz indeks centromerów. Na podstawie wyżej wymienionych cech identyfikowano pary chromosomów homologicznych w każdej z analizowanych płytek. Dla wszystkich badanych odmian sporządzono kariotypy. Wykazano, że chromosomy odmian należących do *T. gesneriana* i *T. fosteriana* oraz odmiany mieszańców Darwina są pod względem ich charakterystyki morfometrycznej stosunkowo mało zróżnicowane. Podobnie przeprowadzona przez Southern (1967) analiza morfologii chromosomów u diploidalnych i poliploidalnych gatunków należących do podsekcji *Eriostemones* wykazała podobieństwo w morfologii kariotypów dla 16 analizowanych gatunków.

Brak asymetrii kariotypów opisany w publikacji [H1] utrudnia identyfikację poszczególnych chromosomów. Jedynie chromosomy metacentryczne są

rozpoznawalne w płytkach metafazowych na podstawie cech morfologicznych i mogą służyć, jako markery do identyfikacji gatunków diploidalnych. Analiza dyskryminacyjna w odniesieniu do całkowitej długości chromosomów i długości ramienia krótszego wykazała obecność istotnej różnicy pomiędzy rozmiarami chromosomów metacentrycznych dla gatunków należących do *T. gesneriana* i *T. fosteriana*. Porównanie długości chromosomów metacentrycznych w mieszańcach Darwina wykazało, że dwa dłuższe chromosomy pochodzą od *T. gesneriana*, a jeden krótszy od *T. fosteriana*. Odkrycie to zostało potwierdzone poprzez analizy GISH wykorzystujące do hybrydyzacji *in situ* całkowity genomowy DNA jednego z rodzicielskich gatunków, jako sondę. Sposób ten umożliwił wyróżnienie chromosomów tego gatunku w genomie mieszańca oraz pomiary zawartości DNA z wykorzystaniem cystometrii przepływowej. Przeprowadzone badania wykazały, że testowane mieszańce Darwina posiadają dwie kopie genomu *T. gesneriana* i jedną kopię genomu *T. fosteriana*. Otrzymane wyniki wskazują, że poliploidyzacja w analizowanych mieszańcach Darwina nastąpiła w wyniku przyłączenia gamet diploidalnych dostarczonych przez odmiany *T. gesneriana*. Jest to pierwsza praca, w której zastosowano GISH do analizy genomów tulipana.

Publikacja [H2]

Mizuochi, H., **Marasek, A.**, K. Okazaki. 2007: Molecular cloning and cytogenetic organization of 5S rDNA and 45S rDNA in *Tulipa gesneriana* and *T. fosteriana*. *Euphytica* 155: 235-248

W publikacji [H1] wykazano, że większość chromosomów tulipana jest trudna do identyfikacji na podstawie cech morfologicznych. Ze względu na to w pracy [H2], podjęto badania mające na celu identyfikacje poszczególnych chromosomów z wykorzystaniem techniki podwójnej fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) z sekwencjami 5S rDNA i 45S rDNA. Sygnały hybrydyzacji *in situ* z powtarzalnymi sekwencjami DNA mogą dawać wzór charakterystyczny dla poszczególnych chromosomów. Dla przykładu technika FISH z wykorzystaniem sond 5S rDNA i 25S rDNA dostarczyła cytomolekularnych markerów do identyfikacji większości chromosomów między innymi dla rodzajów i gatunków *Brassica* (Snowdon i wsp. 2000; Hasterok i wsp. 2001; Maluszynska i Hasterok 2005), *Raphanus sativus* i *Sinapsis alba* (Schrader i wsp. 2000), *Hordeum vulgare* (Leitch i Heslop-Harrison

1993). Publikacja [H2] jest pierwszą pracą, w której zastosowano sondy 5S rDNA i 45S rDNA do mapowania powtarzalnych sekwencji rDNA na chromosomach tulipana. W pierwszym etapie badań sklonowano 5S rDNA i 45S rDNA. W genomie *Tulipa fosteriana* dla genów 5S rDNA wykazano obecność trzech klas powtarzalnych jednostek o długości odpowiednio 390, 364 i 380 pz. Dziewięć z dwunastu klonów posiadało jednostkę powtarzalną o długości ok. 390 pz (390-396 pz), która wykazywała odpowiednio 90% i 85% podobieństwa do 5S rDNA *Triticum* (Baum i wsp. 2004) i *Clivia* (Ran i wsp. 2001). W drugim etapie badań, diploidalne odmiany ‘Christmas Dream’ i ‘Queen of Night’ należące do *T. gesneriana* i ‘Red Emperor’ reprezentującej *T. fosteriana* zostały porównane pod względem cytogenetycznym przy użyciu klonów 5S i 45S rDNA jako sond w technice fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ*. Badania te wykazały obecność loci 5S rDNA na każdym chromosomie w analizowanych genomach i ich liczba wynosiła odpowiednio 45 u ‘Christmas Dream’, 56 u ‘Queen of Night’ i 71 u ‘Red Emperor’. Loci 45S rDNA zlokalizowano na 11 chromosomach ‘Christmas Dream’, na 13 u ‘Queen of Night’ i na 10 ‘Red Emperor’. We wszystkich analizowanych odmianach loci 45S rDNA były zlokalizowane w dystalnej części ramienia dłuższego chromosomu. Podobnie, mapowanie loci 45S rDNA w pozycji telomerowej w ramieniu dłuższym obserwowano między innymi u *Paeonia* (Zhang i Sang 1999), *Phaseolus* (Moscone i wsp. 1999), *Clivia* (Ran i wsp. 2001) i *Brassica* (Hasterok i wsp. 2001, 2005).

U ‘Christmas Dream’ i ‘Queen of Night’ loci 5S rDNA znajdowały się w telomerowej pozycji w ramieniu krótszym oraz interkalarnie w ramieniu dłuższym. Wyjątek stanowiła pierwsza para chromosomów, na których loci 5S rDNA były rozmieszczone interkalarnie na obu ramionach. U ‘Red Emperor’, podobnie jak u odmian należących do *T. gesneriana*, loci 5S rDNA obserwowano w części telomerowej w ramieniu krótszym, natomiast w ramieniu dłuższym były one zlokalizowane przede wszystkim interkalarnie. Ponadto kilka loci 5S rDNA zlokalizowano w obszarze przycentromerowym ramienia dłuższego (chromosomy par 1-ej, 9-tej i 10-tej) oraz w pozycji telomerowej w chromosomach pary 10-tej. Podobnie, duże zróżnicowanie w lokalizacji loci 5S rDNA obserwowano u rodzajów *Lathyrus* (Ali i wsp. 2000), *Brassica* (Hasterok i wsp. 2001) i *Lilium* (Marasek i wsp. 2004).

Podwójna fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH) z sekwencjami 5S rDNA i 45S rDNA pozwoliła na zróżnicowanie chromosomów lub grup chromosomów we wszystkich analizowanych odmianach. Obserwowano również różnice pomiędzy

odmianami *T. gesneriana* i *T. fosteriana*, które dotyczyły rozmiarów, liczby i lokalizacji loci rDNA. Jedynie cztery pary chromosomów odmiany 'Red Emperor' (*T. fosteriana*) miało taki sam wzór jak u odmian należących do *T. gesneriana*. Pomimo, wykazanych różnic dotyczących liczby i rozmiarów sygnałów dla sond 5S i 45S rDNA, Blakey i Vosa (1982) i Van Eij i wsp. (1991) wskazują na podobieństwo kariotypów oraz dużą krzyżowalność pomiędzy odmianami należącymi do *T. gesneriana* i *T. fosteriana*.

Publikacje [H3] i [H4]

Marasek A., Okazaki K. 2008: Analysis of introgression of the *Tulipa fosteriana* genome into *Tulipa gesneriana* using GISH and FISH. *Euphytica* 160: 217 – 230.

Marasek-Ciolakowska A., He H., Bijman P., Ramanna M. S., Arens P., van Tuyl J. M. 2012: Assessment of intergenomic recombination through GISH analysis of F1, BC1 and BC2 progenies of *Tulipa gesneriana* and *T. fosteriana*. *Plant Systematic and Evolution* 298:887–899

Introgresja pożądaných genów jest głównym celem hodowli. Przez wiele lat hodowcy skupiali się na cechach takich jak ciekawa barwa, wielkość kształt kwiatów. Wraz ze wzrostem znaczenia uprawy tulipana na kwiat cięty i doniczkowy, uzyskanie oczekiwanych cech pędzenia stało się priorytetem (Van Tuyl i wsp. 2012). Ponieważ tulipany mogą być narażone na wiele chorób, spośród których największe straty przynoszą te powodowane przez wirus pstrości tulipana (*Tulip breaking virus*, TBV), a także przez takie patogeny jak *Fusarium oxysporum* f.sp. *tulipae* i *Botrytis tulipae*, kolejnym ważnym kierunkiem stała się hodowla odpornościowa tulipana (Van Creij 1997; Van Eijk i wsp. 1983, 1986). Odporność na TBV, wywołującego najpowszechniejszą z chorób wirusowych tulipanów, nie została do tej pory znaleziona wśród komercyjnych odmian *T. gesneriana*. Natomiast u odmian *T. fosteriana* znaleziono kilkanaście genotypów charakteryzujących się wysokim stopniem odporności (Romanow i wsp. 1991; Eikelboom i wsp. 1992). Z tego powodu w Wageningen University and Research Centre, Wageningen, w Holandii, przeprowadzono szereg krzyżowań pomiędzy odmianami *T. fosteriana* odpornymi na porażenie przez TBV oraz wrażliwymi odmianami *T. gesneriana*, w wyniku, których otrzymano mieszańce Darwina wykazujące podwyższoną odporność na pstrośćtulipana (Van Tuyl i Van Creij 2006). Można wyróżnić dwa typy introgresji - całych

chromosomów i ich fragmentów. Warunkiem introgresji fragmentów chromosomów są rekombinacje homologiczne. Ich obecność może być monitorowana z wykorzystaniem genomowej hybrydyzacji *in situ* (GISH). U roślin ozdobnych technika GISH została między innymi wykorzystana do określenia ilości i pozycji rekombinacji homeologicznych w mieszańcach oddalonych w rodzaju *Alstromeria* (Kamstra i wsp. 1997, 1999, 2004; Ramanna i wsp. 2003) i *Lilium* (Karlov i wsp. 1999; Lim i wsp. 2000; Lim i wsp. 2003; Barba-Gonzalez i wsp. 2006; Khan i wsp. 2009, 2010; Xie i wsp. 2010). Dla rodzaju *Tulipa*, do tej pory, nie prowadzono badań z wykorzystaniem techniki GISH mających na celu poznanie składu genomowego otrzymanych mieszańców oraz analizę obecności i transmisji rekombinowanych chromosomów.

W publikacji [H3] podjęto między innymi próbę wyjaśnienia mieszańcowego statusu diploidalnej odmiany 'Purissima' ($2n = 2x = 24$) zaliczanej do grupy Fosteriana (Van Scheepen 1996) oraz tetraploidalnej odmiany 'Judith Leyster' ($2n = 4x = 48$) (Grupa Triumph). Analizowano również konstytucję genomową mieszańców Darwina otrzymanych w wyniku krzyżowań pomiędzy odmianami należącymi do *T. gesneriana* i 'Purissima'. Z użyciem hybrydyzacji metodą Southerna, GISH oraz FISH z sondami 45S rDNA i 5S rDNA wykazano, że 'Purissima' jest mieszańcem Darwina posiadającym genom *T. gesneriana* i genom *T. fosteriana*. Mapowanie genów rybosomalnego RNA (rRNA) u 'Purissima' ujawniło różnice w ich rozmieszczeniu pomiędzy chromosomami reprezentującymi genomu *T. fosteriana* i *T. gesneriana*, co umożliwiło identyfikację tych chromosomów w mieszańcach BC1. Żeńsko-sterylna odmiana 'Purissima', charakteryzująca się żywotnym pyłkiem, została użyta do krzyżowań, jako forma ojcowska. Analiza pyłku przeprowadzona u tej odmiany (opisana w pracach [H3] i [H4]) wykazała obecność diploidalnych ziaren na poziomie 2.8%. W wyniku krzyżowań otrzymano kilka form poliploidalnych. Zastosowanie GISH i FISH z sondami rDNA umożliwiły identyfikację większości chromosomów u mieszańców 'Purissima'. Przedstawiona w pracy [H3] analiza GISH po raz pierwszy wskazała na obecność translokacji międzygenomowych w mieszańcach Darwina. Liczba i typ translokacji różnił się pomiędzy odmianami i wynosiła od 1 u odmiany 'Kikomachi' do 6 u 'Hatsuzakura', przy czym wyróżniono dwa typy chromosomów, chromosomy z centromerem *T. fosteriana* posiadające fragment chromosomu *T. gesneriana* (F/G) i odwrotnie (G/F).

Obecność translokacji międzygenomowych opisano także w pracy [H4], w której zamieszczono analizę konstytucji genomowej mieszańców F1, BC1 i BC2

Darwina. Mieszańce F1 otrzymano w wyniku krzyżowań pomiędzy odmianami *T. gesneriana* i siewkami *T. fosteriana* odpornymi bądź wykazującymi podwyższoną odporność na porażenie TBV. Wszystkie otrzymane rośliny były diploidami ($2n = 2x = 24$) z wyjątkiem tetraploidalnego mieszańca BC1 ($2n = 4x = 48$) i aneuploidalnego mieszańca BC2 ($2n = 2x + 1 = 25$). Liczba translokacji wynosiła od 3 do 6 w pokoleniu BC1 i od 1 do 7 w BC2. Spośród 84 rekombinowanych chromosomów, które obserwowano w pokoleniu BC1, 57 powstało w wyniku pojedynczych chiazm. U 32 mieszańców pokolenia BC2 odkryto 130 chromosomów rekombinowanych, przy czym 42 były takie same jak w pokoleniu BC1, 20 powstało w wyniku drugiego cyklu rekombinacji, podczas gdy 68 reprezentowało nowe chromosomy rekombinowane. W przypadku tulipana, obserwowano w chromosomie od jednego do dwóch crossing over, podczas gdy np. u *Lilium* rekombinacje zachodzą na chromosomie z większą częstotliwością (Khan et al. 2009). Regiony chromosomu, w których zachodzą rekombinacje międzygenomowe u tulipana rozmieszczone są losowo na obu ramionach chromosomu a w genomie są obecne na różnych chromosomach.

Publikacja [H5]

Marasek-Ciolakowska A, Xie S., Ramanna M.S., Arens P., van Tuyl J.M. 2012. Meiotic Polyploidization in Darwin Hybrid Tulips. *Acta Horticulturae* 953:187- 192

Ze względu na fakt, że poliploidy w porównaniu z ich diploidalnymi przodkami są większe, bujniejsze oraz charakteryzują się większymi kwiatami i lepszym wigorem, intensywna selekcja prowadzona przez hodowców spowodowała, że obecnie w handlu dominują poliploidalne formy m.in., narcyzów, hiacyntów i lilii (Van Tuyl i wsp. 2002; Ramanna i wsp. 2012). Natomiast większość gatunków i odmian tulipana jest diploidalna ($2n = 2x = 24$). Jedynie około 100 zarejestrowanych odmian tulipanów jest tetraploidalna ($2n = 4x = 48$), niewielka liczba jest triploidalna ($2n = 3x = 36$) i pentaploidalna ($2n = 5x = 60$) – są to głównie mieszańce z grupy mieszańców Darwina (Holitscher 1968; Kroon 1975; Zeilinga i Schouten 1968a, b; Kroon i Jongerius 1986; Van Scheepen, 1996).

Formy tulipana o zwielokrotnionej liczbie chromosomów można otrzymać między innymi przy pomocy somatycznej (mitotycznej) i mejotycznej poliploidyacji. Pierwsza metoda polega na podwajaniu liczby chromosomów w komórkach

somatycznych mieszańców F1 z wykorzystaniem kolchicyny lub oryzaliny (Van Tuyl i wsp. 1992; Eikelboom i wsp. 2001; Van Tuyl i wsp. 2002; Chauvin i wsp. 2006; Podwyszyńska 2012). Jednym z najbardziej znanych genotypów otrzymanych w wyniku poliploidyacji mitotycznej jest tetraploidalna odmiana ‘Christmas Marvel’ (Eikelboom i wsp. 2001). Jednak ze względu na bardzo małą liczbę rekombinacji międzygenomowych, produkcja amfidiploidów nie ma dużego znaczenia w hodowli introgresywnej.

W poliploidyacji mejozy poliploidy uzyskuje się w wyniku krzyżowań z udziałem genotypów wytwarzających niezredukowane gamety ($2n$) (Van Tuyl 1997). Spontaniczną produkcję małej ilości gamet $2n$ przez mieszańce międzygatunkowe obserwowano między innymi w rodzaju *Alstroemeria* i *Lilium* (Van Tuyl 1989; Lim i wsp. 2001; Ramanna i Jacobsen 2003). Podobnie, w rodzaju *Tulipa*, w wyniku krzyżowań pomiędzy diploidalnymi formami rodzicielskimi zostały otrzymane triploidalne mieszańce Darwina takie jak ‘Apeldoorn’, ‘Ad Rem’, ‘Pink Impression’ oraz tetraploidalna odmiana ‘Tender Beauty’ ($2n = 4x = 48$), co wskazuje na udział niezredukowanych gamet w procesie ich tworzenia (Van Scheepen 1996). Zostało to potwierdzone jednoznacznie w przedstawionych w pracach [H1] i [H3] badaniach, które były prowadzone na triploidalnych mieszańcach Darwina ‘Yellow Dover’ i ‘Kouki’, u których analiza GISH ujawniła, że niezredukowane gamety zostały dostarczone przez diploidalne odmiany *T. gesneriana*.

Innym podejściem umożliwiającym poliploidyację tulipana jest indukcja niezredukowanych gamet ($2n$) przy pomocy gazu N_2O , a następnie wykorzystanie ich do krzyżowań (Okazaki 2005; Okazaki i wsp. 2005; Barba-Gonzalez i wsp. 2006b), bądź traktowanie po zapyleniu gazem zalążni (Zeilinga i Schouten 1968b). Poliploidalne mieszańce tulipana otrzymano również w wyniku krzyżowania pomiędzy genotypami o różnym poziomie ploidalności (Van Scheepen 1996; Straathof i Eikelboom 1997; Okazaki i Nishimura 2000) oraz w wyniku krzyżowań pomiędzy tetraploidami, pośród których najbardziej znana jest tetraploidalna odmiana tulipana ‘Judith Leyster’ (Straathof i Eikelboom 1997).

Genotypy poliploidalne (opisane w pracach [H3] i [H4]) otrzymane w wyniku krzyżowań z udziałem form rodzicielskich wytwarzających niezredukowane gamety przyczyniły się do podjęcia prób manipulacji poziomem ploidalności w mieszańcach Darwina, których wyniki zostały przedstawione w publikacji [H5]. Analiza przy użyciu cytometrii przepływowej oraz obserwacje mikroskopowe ziaren pyłku kielkujących na

pożywkach agarowych i barwionych acetokarminem wykazały, że niektóre mieszańce F1 Darwina (*T. gesneriana* × *T. fosteriana*) produkują zarówno gamety n jak i $2n$. Diploidalne mieszańce F1 charakteryzujące się żywotnością pyłku równą lub większą niż 20% i wysokim procentem $2n$ gamet (18-88%) zostały użyte w tej pracy, jako forma ojcowska w krzyżowaniach z diploidalnymi i triploidalnymi odmianami *T. gesneriana* ($2x \times 2x$ ($2n$), $3x \times 2x$ ($2n$)).

Analiza przy użyciu cytometrii przepływowej 202 sztuk jednorocznych siewek BC1 otrzymanych z krzyżowań na poziomie diploidalnym ($2x \times 2x$), gdzie formy ojcowskie wytwarzały pyłek $2n$ wykazała, że większość otrzymanych mieszańców była diploidalna, a jedynie 9 siewek było triploidalnych ($2n = 3x = 36$). Niski plon form triploidalnych w krzyżowaniach $2x \times 2x$ ($2n$) mógł być spowodowany niezgodnością tkankową, wynikającą z nietypowych stosunków ploidalności tkanki zarodka, bielma i zalążni, w której zarodek się rozwija i prowadzić do jego zamierania (Johnston et al. 1980). Zaistniałą powyżej sytuację można porównać do krzyżowań $2x \times 4x$, w wyniku, których otrzymano triploidalne odmiany między innymi takie jak: ‘Lady Margot’, ‘Benny Neyman’ i ‘Sun Child’ oraz tetraploidalne odmiany ‘Riant’, ‘Beauty of Canada’ i ‘Peerless Yellow’ (Kroon i Van Eijk 1977; Van Scheepen 1996). Natomiast triploidalna odmiana ‘World’s Favourite’ została otrzymana w wyniku krzyżowań pomiędzy tetraploidalnym mieszańcem *T. gesneriana* (‘Denbola’ × ‘Lustige Witwe’) i diploidalną odmianą *T. fosteriana* (Straathof i Eikelboom 1997).

W wyniku krzyżowań $3x \times 2x$ ($2n$) otrzymano, obok form aneuploidalnych, mieszańce tetraploidalne ($2n = 4x = 48$) i pentaploidalne ($2n = 5x = 60$). Dzięki zastosowaniu techniki GISH możliwym była analiza składu genomowego oraz określenie ilości rekombinacji międzygenomowych w mieszańcach BC1. Uzyskane wyniki wskazują, że triploidalne formy rodzicielskie produkują gamety zarówno aneuploidalne, jak i euploidalne (x , $2x$, $3x$). Podobnie w rodzaju *Lilium*, aneuploidalne ($2n = 3x+2 = 38$) i pentaploidalne ($2n = 5x = 60$) genotypy otrzymano w wyniku krzyżowań pomiędzy allotriploidalnym mieszańcem BC1 (AOA) i diploidalnym mieszańcem OA produkującym niezredukowane gamety (Barba-Gonzalez i wsp. 2006). Pentaploidalne mieszańce w wyniku krzyżowań $3x \times 4x$ uzyskano w rodzaju *Lilium* (Lim i wsp. 2003a), *Aloineae* (Brandham 1982), *Dactylis* (Jones i Borrill 1962) i *Primula* (Hayashi i wsp. 2009). Natomiast diploidalne i aneuploidalne mieszańce tulipana otrzymano w wyniku krzyżowań $2x \times 3x$ i $3x \times 2x$ (Upcott i Philip 1939; Bamford i wsp. 1939; Okazaki i Nishimura 2000).

Największą zaletą poliploidyacji mejotycznej w porównaniu z mitotyczną jest możliwość pojawienia się w mejozie rekombinacji homoelogenicznych pomiędzy chromosomami rodzicielskim, dzięki czemu możliwym jest otrzymanie potomstwa zróżnicowanego pod względem genetycznym (Okazaki 2005). Analiza GISH wykazała obecność rekombinowanych chromosomów w obu genotypach. Podobnie obecność między genomowych rekombinacji wykazano w mieszańcach ‘Purissima’ ([H3] i [H5]).

5.4. Podsumowanie jednotematycznego cyklu publikacji

Introgresja genów warunkujących odporność na choroby oraz poliploidyacja należą do jednych z głównych zadań współczesnej hodowli tulipana. W celu przeniesienia odporności zostały przeprowadzone liczne krzyżowania pomiędzy odpornymi na porażenie przez TBV odmianami *T. fosteriana* a wrażliwymi odmianami *T. gesneriana*. Wykazano, że mieszańce Darwina (*T. gesneriana* × *T. fosteriana*) otrzymane z tych krzyżowań są idealnymi genotypami pośrednimi umożliwiającymi włączenie zasobów genowych *T. fosteriana* do asortymentu *T. gesneriana*. W rodzaju *Tulipa*, analiza GISH umożliwiła potwierdzenie statusu mieszańcowego oraz określenie kompozycji genomowej siewek otrzymanych z krzyżowań oddalonych, jak również ujawniła obecność międzygenomowych rekombinacji. Dzięki zastosowaniu i zoptymalizowaniu metody GISH możliwym było wyjaśnienie pochodzenia wielu poliploidalnych mieszańców tulipana oraz roli niezredukowanych gamet w procesie poliploidyacji. Ponadto wykazano, że niektóre mieszańce F1 produkują zarówno gamety n i $2n$, co stwarza unikalną możliwość otrzymania zarówno poliploidalnego, jaki i diploidalnego potomstwa BC1 w wyniku krzyżowania wstecznego mieszańców F1 Darwina z formami rodzicielskimi *T. gesneriana*. Identyfikacja poszczególnych chromosomów lub grup chromosomów w odmianach tulipana była możliwa dzięki zastosowaniu FISH z sondami rDNA. Markery cytogenetyczne w postaci sekwencji powtarzalnych 5S i 45S rDNA były też efektywnym narzędziem do identyfikacji chromosomów w mieszańcach ‘Purissima’. W przyszłości metoda FISH może być zastosowana do fizycznego mapowania genów odporności lub markerów molekularnych odporności na choroby powodowane przez wirusy na chromosomach tulipana oraz śledzenia ich dziedziczenia w potomstwie.

5.5 Cytowana literatura

- Ali H.B., Meister A., Schubert I. (2000) DNA content, rDNA loci, and DAPI bands reflect the phylogenetic distance between *Lathyrus* species. *Genome* 43:1027–1032
- Bamford R., Reynard G.B., Bellows J.M. Jr. (1939) Chromosome number in some tulip hybrids *Bot Gazette* 101: 482-490
- Barba-Gonzalez R., Mille C.T., Ramanna M.S., Van Tuyl J.M. (2006) Induction of $2n$ gametes for overcoming F1-sterility in lily and tulip. *Acta Hort* 714: 99-106
- Baum B.R., Bailey L.G., Belyayev A., Raskina O., Nevo E. (2004) The utility of the nontranscribed spacer of the 5S rDNA units grouped into unit classes assigned to haplomes—a test on cultivated wheat and wheat progenitors. *Genome* 47:590–599
- BKD. 2013 Annually published statistics by The Duch Bloembollenkeuringsdienst.
- Blakey D.H., Vosa C.G. (1981) Heterochromatin and chromosome variation in cultivated species of *Tulipa*, subg. *Eriostemon* (*Liliaceae*). *Plant Syst Evol* 139: 47-55
- Blakey D.H., Vosa C.G. (1982) Heterochromatin and chromosome variation in cultivated species of *Tulipa* subg. *Leiostemon* (*Liliaceae*). *Plant Syst Evol* 139: 163–178
- Botschantzeva Z.P. (1962) Tulips. *Taxonomy, morphology, cytology, phytogeography and physiology*, (Russian edn), English translation: Varekamp, H.Q. (1982) Balkema, Rotterdam, The Netherlands
- Brandham P.E. (1982) Inter-embryo competition in the progeny of autotriploid *Aloineae* (*Liliaceae*). *Genetica* 59: 29-42
- Brandham P.E., Kirton P.R. (1987) The chromosomes of species, hybrids and cultivars of *Narcissus* L. (*Amaryllidaceae*). *Kew bulletin* 42:65-102
- Buschman J.C.M. (2005) Globalisation-Flower-Flower bulbs-Bulb Flowers. *Acta Hort* 673: 27-34
- Chauvin J.E., Label A., Kermarrec M.P. (2006) *In vitro* chromosome-doubling in tulip (*Tulipa gesneriana* L.) *J Hort Science Biotech* 80: 693-698
- De Hertogh A.A., Van Scheepen J., Le Nard M., Okubo H., Kamenetsky R. (2012) Globalisation of the Flower Bulb Industry. In *Ornamental Geophytes. From Basic Science to Sustainable Production*. Eds. R. Kamenetsky and Okubo H., CRS Press, pp. 1-16
- Eikelboom W., Van Eijk J.P., Peters D., Van Tuyl J.M. (1992) Resistance to Tulip Breaking Virus (TBV) in Tulip. *Acta Hort* 325: 631-636
- Eikelboom W., Straathof Th.P., Van Tuyl J.M. (2001) Tetraploide “Christmas Marvel” methoden om tetraploide tulpen te verkrijgen. *Bloembollencultuur* 112, 22-23
- Filion W.G. (1974) Differential Giemsa staining in plants. I. Banding patterns in three cultivars of *Tulipa*. *Chromosoma* 49:51–60
- Hayashi M., Kato J., Ohashi H., Mii M. (2009) Unreduced $3x$ gamete formation of allotriploid hybrid derived from the cross of *Primula denticulata* ($4x$) x *P. rosea* ($2x$) as a causal factor for producing pentaploid hybrids in the backcross with pollen of tetraploid *P. denticulate*. *Euphytica*: 169(1):123-131
- Hall A.D. (1940) The genus *Tulipa*. The Royal Horticulture Society, London, England.
- Holitscher O. (1968) Pruhonicky sortiment tulipanu. *Acta Pruh* 18, 1-215
- Hasterok R., Jenkins G., Longdon T., Jones R.N., Maluszynska J. (2001) Ribosomal DNA is an effective marker of *Brassica* chromosomes. *Theor Appl Genet* 103:486–490
- Hasterok R., Wolny E., Kulak S., Zdziechowicz A., Maluszynska J., Heneen W.K. (2005) Molecular cytogenetic analysis of *Brassica rapa*-*Brassica oleracea* var. *alboglabra* monosomic addition lines. *Theor Appl Genet* 111:196–205
- Jabłońska L. (2006) Społeczno-ekonomiczne uwarunkowania rozwoju polskiego kwiaciarnictwa. *Zeszyty Problemowe Post. Nauk Roln.* 510: 203-211
- Johnston S.A., Den Nijs T.M.P., Peloquin S.J., Hanneman R.E., Jr. (1980) The significance of genic balance to endosperm development in intraspecific crosses. *Theor Appl Genet* 57:5-9.
- Jones K., Borrill M. (1962) Chromosome status, gene exchange and evolution in *Dactylis*:III, the role of the interploidy hybrids. *Genetica* 32: 269-322

- Kamstra S.A., Kuipers A.G.J., De Jeu M.J., Ramanna M.S., Jacobsen E. (1997) Physical localisation of repetitive DNA sequences in *Alstroemeria*: karyotyping of two species with species-specific and ribosomal DNA. *Genome* 40:652–658
- Kamstra S.A., De Jong J.H., Jacobsen E., Ramanna M.S., Kuipers A.G.J. (2004) Meiotic behaviour of individual chromosomes in allotriploid *Alstroemeria* hybrids. *Heredity* 93:15–21
- Kamstra S.A., Ramanna M.S., De Jeu M.J., Kuipers G.J., Jacobsen E. (1999) Homoelogous chromosome pairing in the distant hybrid of *Alstroemeria aurea* × *A. indora* and the genome composition of its backcross derivatives determined by fluorescence in situ hybridization with species-specific probes. *Heredity* 82: 69-78
- Karlov G.I., Khrustaleva L.I., Lim K.B., Van Tuyl J.M. (1999) Homoelogous recombination in 2n-gamete producing interspecific hybrids of *Lilium* (Liliaceae) studied by genomic *in situ* hybridization. *Genome* 42: 681-686
- Khan N., Barba-Gonzalez R., Ramanna M.S., Visser R.G.F., Van Tuyl J.M. (2009) Construction of chromosomal recombination maps of three genomes of lilies (*Lilium*) based on GISH analysis. *Genome* 52: 238-251
- Khan N., Barba-Gonzalez R., Ramanna M.S., Arens P., Visser R.G.F., Van Tuyl J.M. (2010) Relevance of unilateral and bilateral sexual polyploidisation in relation to intergenomic recombination and introgression in *Lilium* species hybrids *Euphytica* 171: 157-173
- Killingback S. (1990) Tulips—an illustrated identifier and guide to their cultivation. Apple Press, London, pp 9–13
- Kroon G.H. (1975) Chromosome numbers of garden tulips. *Acta Bot Neer* 24: 489-490
- Kroon G.H., Jongerius M.C. (1986) Chromosome numbers of *Tulipa* species and the occurrence of hexaploidy. *Euphytica* 35: 73-76
- Kroon G.H., Van Eijk J.P. (1977) Polyploidy in tulips (*Tulipa L.*). The occurrence of diploid gametes. *Euphytica* 26: 63–66
- Leitch I.J., Heslop-Harrison J.S. (1993) Physical mapping for four sites of 5S rDNA sequences and one site of the alpha-amylase gene in barley (*Hordeum vulgare*). *Genome* 36:517–523
- Lefeber DW (1960) Raising and introducing new tulips. *Daffodil and Tulip, Year Book*, pp 16–24
- Lim K.B., Chung J.D., Van Kronenburg B.C.E, Ramanna M.S., De Jong J.H., Van Tuyl J.M. (2000) Introgression of *Lilium rubellum* Baker chromosomes into *L. longiflorum* Thunb.: a genome painting study of the F1 hybrid, BC1 and BC2 progenies. *Chromosome Res* 8:119–125
- Lim K.B., Ramanna MS, De Jong J.H., Jacobsen E., Van Tuyl J.M. (2001) Indeterminate meiotic restitution (IMR): a novel type of meiotic nuclear restitution mechanism detected in interspecific lily hybrids by GISH. *Theor Appl Genet* 103: 219–230
- Lim K.B., Ramanna M.S., Jacobsen E., Van Tuyl J.M. (2003) Evaluation of BC2 progenies derived from 3x-2x and 3x-4x crosses of *Lilium* hybrids: a GISH analysis. *Theor Appl Genet* 106:568-574
- Maluszynska J., Hasterok R. (2005) Identification of individual chromosomes and parental genomes in *Brassica juncea* using GISH and FISH. *Cytogenet Genome Res* 109:310–314
- Marasek A., Hasterok R., Wiejacha K., Orlikowska T. (2004) Determination by GISH and FISH of hybrid status in *Lilium*. *Hereditas* 140:1–7
- Moscone E.A., Klein F., Lambrou M., Fuchs J., Schweizer D. (1999) Quantitative karyotyping and dual-color FISH mapping of 5S and 18S-25S rDNA probes in the cultivated Phaseolus species (Leguminosae). *Genome* 42:1224–1233
- Okazaki K. (2005) New aspects of tulip breeding: embryo culture and polyploidy. *Acta Hort* 673:127–140
- Okazaki K., Kurimoto K., Miyajima I., Enami A., Mizuochi H., Matsumoto Y., Ohya H. (2005) Induction of 2n pollen in tulips by arresting the meiotic process with nitrous oxide gas. *Euphytica* 143: 101–114
- Okazaki K., Nishimura M. (2000) Ploidy of progenies crossed between diploids, triploids and tetraploids in tulip. *Acta Hort* 522: 127–134

- Ørgaard M., Jacobsen N., Heslop-Harrison J.S. (1995) The hybrid origin of *Crocus* (Iridaceae) analysed by molecular cytogenetics including genomic Southern and *in situ* hybridization. *Ann Bot* 76:253-262
- Plavcová O., Holitscher D., Petrova E. (1976) Dinitrogen-oxide induction of polyploidy in Tulip. *Sbornik Uvtiz-Zahradni Ctvi* 3: 207-216
- Podwyszyńska M. (2012) In vitro tetraploid induction in tulip (*Tulipa gesneriana* L.) *Acta Hort.* 961: 391-396
- Ran Y., Keith R., Hammett W., Murray B.G. (2001) Hybrid identification in *Clivia* (Amaryllidaceae) using chromosomes banding and genomic *in situ* hybridization. *Ann Bot* 87:457-462
- Ramanna M.S. (1992) The role of sexual polyploidization in the origins of horticultural crops: Alstroemeria as an example. In A. Mariani and S. Tavoletti (eds). *Proceedings of Workshop: Gametes with somatic chromosome number in the evolution and breeding of polyploidy polysomic species: Achievements and perspectives* Tipolitographia Porzuincola-Assisi(PG) Italy pp 83-89
- Ramanna M.S., Jacobsen E. (2003) Relevance of sexual polyploidization for crop improvement—a review. *Euphytica* 133: 3-18
- Ramanna M.S., Kuipers A.G.J., Jacobsen E. (2003) Occurrence of numerically unreduced ($2n$) gametes in Alstroemeria interspecific hybrids and their significance for sexual polyploidisation. *Euphytica* 133: 95-106
- Ramanna M.S., Marasek-Ciolakowska A., Xie S., Khan N., Van Tuyl J.M. (2012) The Significance of Polyploidy for Bulbous Ornamentals: A Molecular Cytogenetic Assessment. Chapter in: *Floriculture and Ornamental Biotechnology. SPECIAL ISSUE: Bulbous Ornamentals*. Editors: Jaap Van Tuyl and Paul Arens. Global Science Books. Ltd. UK Vol 1,pp 116-121
- Romanow L.R., Van Eijk J.P., Eikelboom W., Van Schadewijk A.R., Peters D. (1991) Determining levels of resistance to Tulip Breaking Virus (TBV) in tulip (*Tulipa* L.) cultivars. *Euphytica* 51: 273-280
- Schrader O., Budahn H., Ahne R. (2000) Detection of 5S and 25S rRNA genes in *Sinapis alba*, *Raphanus sativus* and *Brassica napus* by double fluorescence *in situ* hybridisation. *Theor Appl Genet* 100:665-669
- Snowdon R.J., Friedt W., Köhler A., Köhler W. (2000) Molecular localization and characterization of 5S and 25S rDNA loci for chromosome identification in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Ann Bot* 86:201-294
- Southern D.I. (1967) Species relationship in the genus *Tulipa*. *Chromosoma* 23: 80-94
- Straathof Th.P., Eikelboom W. (1997) Tulip breeding at PRI. *Daffodil and Tulip Yearbook* 8: 27-33
- Upcott M., Philp J. (1939) The genetic structure of *Tulipa*. IV. Balance, selection and fertility. *J Genet* 38: 91-123
- Wafai B.A., Koul A.K. (1973) Studies on the genus *Tulipa* III. Nature of triploidy in *Tulipa lanata* Regel. In: P. Kachroo (Eds.) *Advanced Frontiers in Cytogenetics*. Hind. Publ. Corp. New-Delhi, pp 236-243
- Wafai B.A., Koul A.K. (1981) Natural triploidy in *Tulipa clusiana* DC. Var. *Stellata* Regel. *Caryologia* 34: 213-223
- Wafai B.A., Koul A.K. (1986) Karyotype analysis of Himalayan tulips – a prelude to taxonomic rearrangement within subsection Clusinae (genus *Tulipa* L.). *Revista Biol* 13: 65-73
- Van Raamsdonk L.W.D., De Vries T. (1995) Species relationships and taxonomy in *Tulipa* subgenus *Tulipa* L., *Plant Syst Evol* 195: 13-44
- Van Scheepen J. (1996) Classified list and international register of tulip names. Royal General Bulbgrowers' Association KAVB, Hillegom, The Netherlands
- Van Creij M.G.M. (1997) Interspecific hybridization in the genus *Tulipa* L., Thesis Wageningen, pp 163
- Van Eijk J.P., Garretsen F., Eikelboom W. (1983) Breeding for resistance to *Fusarium oxysporum f.sp. tulipae* in tulip (*Tulipa* L.). 2. Phenotypic and genotypic evaluation of cultivars. *Euphytica* 28: 67-71

- Van Eijk J.P., Eikelboom W., Custers J.B.M., Franken J., Van Raamsdonk L.W.D. (1986) Interspecific crosses in tulip breeding. *Acta Hort* 177: 590-590
- Van Eijk J.P., Van Raamsdonk L.W.D., Eikelboom W., Bino R.J. (1991) Interspecific crosses between *Tulipa gesneriana* cultivars and wild *Tulipa* species: a survey. *Sexual Plant Rep* 4: 1-5
- Van Tuyl J.M. (1989) Research on mitotic and meiotic polyploidization in lily breeding. *Herbertia* 45: 97-103
- Van Tuyl J.M. (1997) Interspecific hybridization of flower bulbs: A review. *Acta Hort* 430: 465-476
- Van Tuyl J.M., Lim K.B., Ramanna M.S. (2002) Interspecific hybridization and introgression In: Vainstein A (Ed) *Breeding for Ornamentals: Classical and Molecular Approaches*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 85-103
- Van Tuyl J.M., Van Creijl M.G.M. (2006) *Tulipa gesneriana* and *T.* hybrids. In: Anderson NO (Eds) *Flower breeding and genetics*. Chapter 23. Springer Verlag, pp 623-641
- Van Tuyl J.M., Arens P., Marasek-Ciolakowska A. (2012) Breeding and Genetics of Ornamental Geophytes. Chapter 6 in *Ornamental Geophytes: From Basic Science to Sustainable Horticultural Production*, Editors R. Kamenetsky and H. Okubo CRC 131-158
- Xie S., Khan N., Ramanna M.S., Niu L., Marasek-Ciolakowska A., Arens P., Van Tuyl J.M. (2010) An assessment of chromosomal rearrangements in neopolyploids of *Lilium* hybrids. *Genome* 53: 439-446.
- Zeilinga A.E., Schouten H.P. (1968a) Polyploidy in garden tulips. I. Survey of *Tulipa* varieties for polyploids. *Euphytica* 17: 252-264
- Zeilinga A.E., Schouten H.P. (1968b) Polyploidy in garden tulips. II. The production of tetraploids. *Euphytica* 17: 303-310
- Zhang D., Sang T. (1999) Physical mapping of ribosomal RNA genes in Peonies (*Paeonia*, Paeoniaceae) by fluorescent in situ hybridization: implications for phylogeny and concerted evolution. *Am J Bot* 86:735-740
- Zonneveld B.J.M. (2009) The systematic value of nuclear genome size for "all" species of *Tulipa* L. (Liliaceae). *Plant Syst Evol* 281: 217-245

6. Przebieg pracy naukowej

6.1. Przebieg pracy naukowej w okresie poprzedzającym uzyskanie stopnia doktora

W latach 1989-1994 studiowałam na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Łódzkiego. W czerwcu 1994 roku obroniłam z wynikiem bardzo dobrym pracę magisterską pt. „Wpływ chromu na liczbę jader, aktywność mitotyczną oraz długość komórek w plezje *Cladophora* sp.” wykonaną w Katedrze Cytologii i Cytochemii Roślin Instytutu Fizjologii, Cytochemii i Cytogenetyki pod kierunkiem prof. dr hab. Barbary Gabary. W trakcie wykonywania pracy pogłębiłam wiedzę z zakresu fizjologii roślin i opanowałam szereg metod mikroskopii świetlnej.

Bezpośrednio po zakończeniu studiów 30 lipca 1994 roku rozpoczęłam pracę w Zakładzie Hodowli Roślin, Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach pod kierunkiem prof. dr hab. Teresy Orlikowskiej. W czasie poprzedzającym uzyskanie stopnia doktora, w latach od 1995 do 2002 roku, uczestniczyłam w kilku tematach realizowanych w ramach badań statutowych Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa

w Skierniewicach. Realizowana przeze mnie tematyka naukowo-badawcza w tym okresie obejmuje między innymi następujące zagadnienia:

- 6.1.1. Badania nad opracowaniem masowej regeneracji roślin ozdobnych w warunkach *in vitro* do celów hodowlanych
- 6.1.2. Opracowanie metod rozmnażania gatunków roślin ozdobnych opornie reagujących *in vitro* na drodze embriogenezy somatycznej
- 6.1.3. Doskonalenie integrowanych metod ochrony roślin ozdobnych przed chorobami
- 6.1.4. Badania nad opracowaniem metody hodowli lilii w oparciu o krzyżowania form oddalonych i nad odzyskiwaniem zarodków z krzyżowań międzygatunkowych lilii przez kultury *in vitro*

Tematyka badawcza określona w zadaniu **6.1.1** dotyczyła analiz histologicznych procesu organogenezy roślin ozdobnych w warunkach *in vitro*. Pod kierunkiem prof. dr hab. Teresy Orlikowskiej uczestniczyłam w badaniach nad opracowaniem masowej regeneracji pędów przybyszowych róży i gerbery w kulturach *in vitro*. Przeprowadzone przeze mnie obserwacje mikroskopowe umożliwiły dokładne rozpoznanie, z jakich tkanek i kiedy tworzą się merystemy pędowe oraz jak jest zorganizowany kalus. Wyniki tych badań opublikowano w oryginalnych pracach naukowych (**B2, D2**) oraz prezentowano na konferencjach naukowych (**H8, I7, I13**). Brałam także udział w badaniach nad regeneracją pędów peonii w warunkach *in vitro* (**D1, G1, H3**) oraz uzyskaniem mutantów użytkowych (**B1, H7, I5**). W obu tematach przeprowadziłam analizę anatomiczną regenerujących eksplantatów peonii. Uczestniczyłam również w badaniach histologicznych regeneratów transgenicznej surfinii uzyskanych w różnych warunkach świetlnych (**I18**).

W ramach tematyki badawczej określonej w zadaniu **6.1.2**, w latach 1997-2000, prowadziłam badania histologiczne nad tworzeniem zarodków somatycznych w kulturach *in vitro* między innymi w rodzaju *Tulipa* (pod kierunkiem dr hab. Małgorzaty Podwyszyńskiej, prof. I.O.) i *Pelargonium* (pod kierunkiem dr Agnieszki Wojtanii). W obu rodzajach wykazano różną zdolność do regeneracji uzależnioną od genotypu i zastosowanych regulatorów wzrostu. U tulipana odmiany 'Prominence' moje obserwacje mikroskopowe potwierdziły obecność licznych skupień komórek

merystematycznych oraz zarodków somatycznych na przekrojach prostopadłych do podłoża przez kalus regenerujący na eksplantatach na pożywce zawierającej 2,4-D i tidiazuron (TDZ). Natomiast przeprowadzona analiza histologiczna zregenerowanych struktur u *Pelargonium* wykazała obecność zarodków somatycznych w stadium wczesnych liścieni oraz pędów przybyszowych. Wyniki badań opublikowano w trzech oryginalnych pracach naukowych (**C1, D3, D5**), w materiałach ze zjazdów i konferencji (**F1, F2, F3**) a także prezentowano na konferencjach naukowych w formie posterów (**H4, H5, H6, H11, H12, I1, I2, I3, I4, I9, I10, G19**).

Tematyka poruszona w zadaniu **6.1.3** dotyczyła badań nad identyfikacją, infekcją, zasiedlaniem i zarodnikowaniem *Peronospora* sp. na zatrwanie tatarskim (*Limonium tataricum* L. Mill), kierowanych przez dr hab. Czesława Skrzpczaka prof. I.O. Prowadzone przeze mnie obserwacje mikroskopowe nad procesem infekcji i zasiedlania wykazały między innymi, że infekcja jest poprzedzona tworzeniem apresoriów na strzępce kielkowej grzyba, a po wnikięciu strzępki infekcyjnej do tkanek, grzybnia rozwija się w przestrzeniach międzykomórkowych. Grzybnia *P. stitices* zasiedla nowo wyrastające liście systemicznie przerastając z szyjki korzeniowej do ogonków a dalej do blaszek liściowych. Wyniki omawianych badań opublikowano w oryginalnych pracach naukowych (**D6, D7**) oraz prezentowano na konferencjach międzynarodowych (**H2, H9**) i krajowych (**I6, I8, I16**). Ponadto brałam również udział w badaniach kierowanych przez prof. dr hab. Leszka Orlikowskiego dotyczących wpływu azoksystrobiny na grzyby rdzawnikowe. Już po jednokrotnym opryskaniu wierzby (*Salix caprea* 'Pendula') z objawami rdzy obserwowałam zahamowanie rozwoju *Melampsora epitea* oraz zasychanie skupień zarodników. Analiza mikroskopowa liści traktowanych fungicydami wykazała deformację zarodników *M. epitea*, drastyczne ograniczenie ich formowania oraz nekrozę tkanek wokół uredyniów. W dalszej kolejności tkanki w miejscach uredyniów brązowiwały i wykruszały się. Efektem tych badań są dwie oryginalne prace naukowe (**C2, D8**) oraz doniesienie na konferencji międzynarodowej (**H15**) i krajowej (**I12**).

Temat badawczy przedstawiony w zadaniu **6.1.4** dotyczył określenia warunków pozwalających na uzyskiwanie mieszańcowych siewek lili z krzyżowań oddalonych przy pomocy izolowania niedojrzałych zarodków i stymulowania ich rozwoju *in vitro*. Projektem kierowała prof. dr hab. Teresa Orlikowska. Krzyżowania były

przeprowadzone pomiędzy gatunkami dzikimi i odmianami lili orientalnych. Określono wpływ terminu izolacji zalążków, rodzaju eksplantatu i stężenia sacharozy na rozwój zarodków. Prowadzone przeze mnie prace obejmowały m. in. badanie żywotności pyłku, analizę przerastania łagiewek pyłkowych przez słupek oraz obserwacje rozwoju zarodków na preparatach mikroskopowych. Najwięcej mieszańców uzyskano z kombinacji, gdzie pyłek наносzono bezpośrednio na skrócony i pozbawiony znamienia słupek, a zalążki przenoszono bezpośrednio na pożywkę po 40-60 dniach od zapylenia. W toku tych badań otrzymano unikalne siewki m. in., ze skrzyżowań ‘Marco Polo’ × *L. henryi*, *L. henryi* × ‘Marco Polo’, ‘Expression’ × *L. henryi*, ‘Muscadet’ × *L. longiflorum* i ‘Alma Ata’ × *L. pumilum*, które stanowiły materiał badawczy wykorzystany w mojej pracy doktorskiej. Wyniki badań prezentowano na konferencji krajowej (I11).

6.2. Badania związane z rozprawą doktorską

Badania prowadzące do uzyskania stopnia doktora nauk przyrodniczych prowadziłam w Zakładzie Biotechnologii Roślin Ozdobnych pod kierunkiem prof. dr hab. Teresy Orlikowskiej. Były one związane z analizą cytogenetyczną i molekularną mieszańców należących do rodzaju *Lilium*. Ze względu na to, że w wyniku krzyżowania oddalonego mogą zaistnieć warunki do powstania zarodków apomiktycznych oraz do eliminacji całego lub części genomu jednego, albo obydwójga partnerów, ważnym jest jak najwcześniejsza weryfikacja statusu genetycznego powstałych siewek lub zregenerowanych roślin.

Ten okres w karierze zawodowej pozwolił mi zaznajomić się z różnymi technikami cytogenetycznymi i molekularnymi, takimi jak barwienia cytochemiczne, różnicujące barwienia fluorescencyjne, fluorescencyjna hybrydyzacja kwasów nukleinowych *in situ* (GISH i FISH) oraz technikami RAPD i ISSR. W toku mojej pracy wykazałam użyteczność markerów molekularnych oraz chromosomowych, uzyskanych przy zastosowaniu barwienia fluorescencyjnego, srebrowego i Giemza do identyfikacji chromosomów gatunków i odmian lili oraz do identyfikacji mieszańców. Ponadto dzięki zastosowaniu metody fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) z sekwencjami 5S i 45S rDNA, jako sondami możliwa była identyfikacja dodatkowej liczby chromosomów w genomach form rodzicielskich, co jest o tyle istotne, że pomimo dużych rozmiarów chromosomów większość z nich jest słabo zróżnicowana

pod względem morfometrycznym, a tym samym identyfikacja niektórych chromosomów była bardzo trudna w oparciu o metody cytogenetyki klasycznej, takie jak analiza parametrów morfometrycznych chromosomów czy też barwienia prążkowe.

Stopień doktora nauk przyrodniczych uzyskałam w 2002 roku. Moja rozprawa doktorska pt. „Ocena statusu mieszańców oddalonych *Lilium* metodami markerów chromosomowych i molekularnych” recenzowana przez prof. dr hab. Katarzynę Niemirowicz-Szczytt i prof. dr hab. Marię Wędzony została wyróżniona nagrodą przez Dyrektora Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarstwa oraz nagrodą I stopnia im. Stefana Barbackiego, przyznaną przez Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu. W okresie poprzedzającym obronę pracy doktorskiej efektem tych badań były także dwie prace oryginalne (**C3**, **D9**), trzy prace przeglądowe (**E1**, **G2**, **G3**), doniesienia na zagranicznych (**H10**, **H13**, **H14**, **H16**, **H17**, **H18**) i krajowych sympozjach naukowych (**I14**, **I15**, **I17**, **I20**, **I21**, **I22**, **I23**) oraz udział w charakterze głównego wykonawcy w projekcie badawczym (0756/PO6/98/14) finansowanym przez Komitet Badań Naukowych. Wkrótce po obronie pracy doktorskiej, wyniki badań wchodzące w jej skład zostały opublikowane w postaci trzech prac oryginalnych w czasopismach naukowych posiadających współczynnik wpływu *Impact Factor* (**B3**, **B5**, **B7**), w jednej publikacji w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowej uwzględnionej w *Web of Science* (**D10**), w doniesieniu na zagranicznej konferencji naukowej (**H19**) oraz w jednej monografii (**E2**).

6.3. Przebieg pracy naukowej w okresie po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora realizowana przeze mnie tematyka naukowo-badawcza obejmuje między innymi następujące zagadnienia:

- 6.3.1. Cytogenetyczna i molekularna analiza genomu *Brachypodium distachyon*
- 6.3.2. Opracowanie metod kontroli jakości (stabilności genetycznej, zdrowotności i statusu fizjologicznego) tulipana rozmnażanego *in vitro*
- 6.3.3. Cytogenetyczna i molekularna analiza genomów w rodzaju *Tulipa*
- 6.3.4. Molekularno-cytogenetyczne badania międzygenomowych rekombinacji i introgresji u tulipana
- 6.3.5. Poliploidyzacja mejotyczna w rodzaju *Tulipa*

Temat badawczy przedstawiony w zagadnieniu **6.3.1** dotyczył cytogenetycznej i molekularnej analizy genomu *Brachypodium distachyon* w aspekcie jego organizacji i pokrewieństwa względem innych gatunków należących do tego rodzaju. Badania te stanowiły część dużego, międzynarodowego projektu badawczego, prowadzonego we współpracy z prof. dr hab. Robertem Hasterokiem z Uniwersytetu Śląskiego, dr Glyn Jenkins i prof. John Draper z University of Wales Aberystwyth (UWA) oraz dr Iain Donnison i dr Ian Armstead z Institute of Grassland and Environmental Research (IGER) w Plas Gogerddan w Wielkiej Brytanii, którego celem było ugruntowanie *B. distachyon* w roli organizmu modelowego dla zbóż i traw użytkowych strefy umiarkowanej. W ramach realizacji tego tematu odbyłam w 2004 r. sześciomiesięczny staż naukowy na University of Wales, Aberystwyth w Wielkiej Brytanii. Pobyt ten pozwolił mi zapoznać się z najnowocześniejszymi technikami biologii molekularnej. W czasie stażu brałam udział w badaniach nad charakterystyką bibliotek BAC (*Bacterial Artificial Chromosomes*; sztuczne chromosomy bakteryjne) skonstruowanych dla dwóch diploidalnych genotypów ($2n = 2x = 10$) *B. distachyon* ABR1 i ABR5 przez prof. dr hab. Roberta Hasteroka. Charakterystyka obejmowała między innymi przeszukiwanie bibliotek pod kątem kontaminacji chloroplastowym DNA, oszacowanie liczby klonów zawierających powtarzalne DNA oraz przeszukiwanie bibliotek z wykorzystaniem PCR z parami starterów zaprojektowanych do identyfikacji sekwencji unikatowych z wybranych obszarów chromosomu 6 ryżu. Ponadto brałam udział w mapowaniu klonów BAC przy użyciu techniki FISH. Wyniki tych badań zostały następnie opublikowane w postaci pracy oryginalnej w *Genetics* (**B8**) oraz prezentowane na konferencjach międzynarodowych (**H20, H21, H22, H26, H27, H30, H31, H32, H33**).

Tematyka poruszona w zagadnieniu **6.3.2** dotyczyła opracowania metod kontroli jakości roślin rozmnażanych *in vitro*. Badania te były przeprowadzone w ramach grantu KBN (074/P04/2003). Moim zadaniem była ocena stabilności genetycznej tulipanów otrzymanych w wyniku nowej metody mikrorozmnażania opracowanej w Instytucie Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach przez dr hab. M. Podwyszyńską, prof. I.O. Weryfikacje zmienności występującej wśród rozmnażanych *in vitro* tulipanów wykonałam przy pomocy fluorescencyjnej hybrydyzacji kwasów nukleinowych *in situ* (FISH) z sondami 45S i 5S rDNA. W przypadku tulipana były to pierwsze prace na

ten temat. Wykazałam obecność różnic dotyczących liczby oraz lokalizacji loci 45S i 5S rDNA pomiędzy materiałem kontrolnym a roślinami namnażanymi cyklicznie. Ze względu na to, że zmutowane rośliny pojawiły się dopiero po dwóch, trzech latach namnażania *in vitro*, wykazałam, że metoda ta może być stosowana pod warunkiem, że namnażanie nie trwa dłużej niż 2-3 lata, a materiał roślinny powinien być kontrolowany, np. przy użyciu markerów cytogenetycznych lub molekularnych. Wyniki tych badań zostały następnie opublikowane w postaci dwóch prac oryginalnych (**D11**, **D13**) oraz prezentowane na konferencjach międzynarodowych (**H25**, **H34**) i krajowych (**I26**).

Zagadnienie **6.3.3** W 2005 r. otrzymałam 2-letnie stypendium naukowe przyznawane przez JSPS (Japan Society for the Promotion of Science). Stypendium to umożliwiło mi odbycie stażu na Niigata University w Japonii. We współpracy z prof. Keichii Okazaki prowadziłam badania związane z cytogenetyczną i molekularną analizą genomów *Tulipa*. Chociaż tulipan jest jedną z najważniejszych roślin ozdobnych, nie było doniesień na temat klasyfikacji gatunków i odmian na podstawie analizy chromosomów oraz polimorfizmu sekwencji DNA. Ponadto dla wielu grup tulipanów otrzymanych w wyniku krzyżowań międzygatunkowych nieznana była ich konstytucja genomowa. Z tego powodu zajęłam się analizą mieszańców oraz klasyfikacją filogenetyczną gatunków należących do rodzaju *Tulipa*. W badaniach tych wykorzystałam szerokie spektrum technik cytogenetyki molekularnej (GISH, gdzie całkowite jądro DNA stanowi sondy do hybrydyzacji, wielobarwna FISH z sondami 5S i 45S rDNA) oraz techniki z zakresu biologii molekularnej (PCR, AFLP, hybrydyzacja wg Southerna). Techniki GISH i FISH zostały zastosowane po raz pierwszy dla rodzaju *Tulipa*. Identyfikacja mieszańców z wykorzystaniem metody GISH została przeprowadzona dla następujących grup (według klasyfikacji ogrodniczej): tulipany pojedyncze późne, tulipany mieszańce Darwina, tulipany Triumph oraz mieszańce pomiędzy gatunkami *Tulipa gesneriana* i odmianą 'Purissima'. Wykorzystując technikę wielobarwnej FISH z sekwencjami rybosomalnego DNA określiłam liczbę i chromosomowe rozmieszczenie loci genów 5S rRNA oraz 45S rRNA dla *T. gesneriana* 'Christmas Dream' i 'Queen of Night', *T. fosteriana* 'Red Emperor' oraz 'Purissima' i mieszańcach 'Purissima'. Szczególną uwagę poświęciłam pochodzeniu triploidalnych tulipanów mieszańców Darwina ($2n = 3x = 36$), które stanowią jedną z najważniejszych grup wśród tulipanów uprawianych dla celów komercyjnych. Mieszańce Darwina otrzymano

spontanicznie w wyniku krzyżowań pomiędzy odmianami gatunków *T. gesneriana* i *T. fosteriana*. Ich znaczenie wynika z faktu, że łączą one pożądane cechy ogrodnicze dwóch sekcji, Tulipa i Eichleres, takie jak odporność na porażenie przez *Fusarium oxysporum* i odporność lub częściowa odporność na wirusa pstrości tulipana (TBV). W moich badaniach wykazałam, że wszystkie przeze mnie analizowane triploidy powstały przy udziale $2n$ gamet dostarczonych przez *T. gesneriana*. Ponadto, udowodniłam przy pomocy hybrydyzacji wg Southerna oraz GISH, że diploidalna odmiana 'Purissima', klasyfikowana do grupy Fosteriana, jest mieszańcem międzygatunkowym pomiędzy *T. gesneriana* i *T. fosteriana*. W dalszych badaniach 'Purissima' została użyta przeze mnie jako forma ojcowska w krzyżowaniach z odmianami należącymi do *T. gesneriana*, w wyniku których otrzymałam prawidłowe nasiona. Dzięki zastosowaniu techniki GISH wykazałam w pokoleniu BC1 i BC2 'Purissima' obecność rekombinowanych chromosomów. Uzyskane przeze mnie wyniki są bardzo przydatne w systematyce botanicznej, wyjaśniają pochodzenie odmian oraz skład ich genomów. Ponadto, brałam udział w analizach filogenetycznych dzikich i ogrodowych tulipanów z wykorzystaniem sekwencji DNA chloroplastowego. Wyniki tych badań dostarczyły szczegółowych informacji o pokrewieństwie wielu gatunków należących do rodzaju *Tulipa*. Wyniki opublikowano w postaci trzech prac oryginalnych w czasopismach naukowych posiadających współczynnik wpływu *Impact Factor* (**H1, H2, H3**), dwóch publikacji w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych uwzględnionych w *Web of Science* (**D12, D16**) oraz prezentowano na międzynarodowych konferencjach naukowych (**H24, H29, H41**).

Tematyka poruszona w zagadnieniu **6.3.4** jest związana z molekularno-cytogenetycznymi badaniami międzygenomowych rekombinacji i introgresji w Mieszańcach Darwina (*T. gesneriana* × *T. fosteriana*). Wkrótce po zakończeniu stypendium naukowego w Japonii, miałam możliwość kontynuacji moich badań nad analizą gnomów tulipana w Wageningen University and Research Centre w Holandii, gdzie w listopadzie 2007 r., na zaproszenie dr Jaap van Tuyl, rozpoczęłam 4-letni staż naukowy. W pierwszym etapie badań zajęłam się oceną mieszańców F1 otrzymanych w wyniku krzyżowań pomiędzy *T. gesneriana* i odpornymi na wirusa pstrości tulipana (*Tulip breaking virus*, TBV,) mieszańcami *T. forsteriana*, w ramach których analizowałam ich skład genomowy przy użyciu techniki GISH oraz żywotność pyłku. Większość mieszańców F1 była sterylna, jednakże udało mi się wyselekcjonować

genotypy charakteryzujące się wysoką żywotnością pyłku, które w następnym etapie zostały wykorzystane do krzyżowań wstecznych. Przeprowadzona przeze mnie analiza mieszańców BC1 i BC2 z wykorzystaniem techniki GISH wykazała, że większość z analizowanych genotypów była diploidalna oraz ujawniła obecność rekombinowanych chromosomów, co wskazuje na prawidłowy przebieg mejozy w pokoleniu F1. Obecność rekombinowanych chromosomów świadczy o możliwości przekazywania na drodze hodowlanej ważnych cech ogrodniczych do asortymentu *T. gesneriana* takich jak np., odporność na TBV. Otwiera to również możliwość zastosowania techniki FISH do lokalizacji na chromosomach tulipana genów odporności bądź też markerów molekularnych związanych z odpornością i śledzenie ich dziedziczenia w potomstwie. Wyniki opublikowano w czasopiśmie naukowym posiadającym współczynnik wpływu *Impact Factor* (**H4**), w publikacjach w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych (**D14, D15**), w rozdziale monografii (**E5, E7**) oraz prezentowano na międzynarodowych konferencjach naukowych (**H35, H36**).

W ramach tematyki badawczej określonej w zadaniu **6.3.5** prowadziłam działania mające na celu otrzymanie poliploidalnych mieszańców tulipana. W toku moich analiz wykazałam, że niektóre mieszańce F1 Darwina (*T. gesneriana* × *T. fosteriana*) produkują zarówno gamety n jak i $2n$, co stworzyło unikalną możliwość otrzymania zarówno diploidalnych jak i poliploidalnych form BC1 w wyniku krzyżowania z odmianami należącymi do *T. gesneriana*. Zgodnie z oczekiwaniami, w wyniku krzyżowań na poziomie diploidalnym ($2x \times 2x$), gdzie formy ojcowskie wytwarzały pyłek n i $2n$, otrzymałam kilka form triploidalnych, jednak większość otrzymanych przeze mnie mieszańców była diploidami. Polyploidalne genotypy tulipanów mieszańców Darwina otrzymałam również w wyniku krzyżowań interploidalnych ($3x \times 2x$, $2x \times 3x$). Szczególnym sukcesem okazały się krzyżowania $3x \times 2x$, gdy forma ojcowska wytwarzała gamety $2n$. W wyniku tych krzyżowań otrzymałam, obok form aneuploidalnych, mieszańce tetraploidalne i pentaploidalne. W przypadku krzyżowań $2x \times 3x$ większość otrzymanych mieszańców była triploidalna, z wyjątkiem kilku aneuploidów ($3x+1$ i $3x-1$). Dzięki zastosowaniu techniki GISH możliwym była analiza powstawania $2n$ gamet oraz określenie ilości rekombinacji międzygenomowych w mieszańcach BC1. Wyniki badań dotyczące poliploidyzacji meiotycznej u tulipana opublikowano w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowej

uwzględnionej w *Web of Science* (**H5**), oraz zaprezentowano na konferencji międzynarodowej (**H40**).

W czasie pobytu na Uniwersytecie Rolniczym w Wageningen (Plant Breeding, Wageningen University and Research Centre, Holandia) prowadziłam również cytogenetyczne badania rodzaju *Lilium* mające między innymi na celu określenie składu genomowego oraz obecności chromosomów rekombinowanych w mieszańcach uzyskanych w wyniku poliploidyzacji somatycznej i mejotycznej (**B10**, **E3**) oraz charakterystykę chromosomów B z wykorzystaniem technik GISH i FISH (**E8**).

Ponadto, we współpracy z firmą hodowlaną Florema Plants B.V. (Amstelveen, Holandia) uczestniczyłam w pracach dotyczących *Begonia elatior* (*Begonia* × *hiemalis* Fotsch), grupy mieszańców powstałych w wyniku krzyżowań pomiędzy *Begonia* × *tuberhybrida* Voss. i *B. socotrana* Hook. Moje badania miały na celu optymalizację dla rodzaju *Begonia* techniki GISH, analizę pochodzenia odmian oraz mieszańców *Begonia elatior*. Wyniki opublikowano w postaci pracy oryginalnej w *Euphytica* (**B9**) oraz prezentowano na konferencji międzynarodowej (**H37**). Są to pierwsze prace dotyczące zastosowania techniki GISH dla genomu *Begonia*.

Uczestniczyłam także w badaniach prowadzonych przez firmę Esmeralda Breeding BV (Aalsmeer, Holandia) nad hodowlą odpornościową *Hypericum* w celu uzyskania roślin odpornych/tolerancyjnych na atak nicieni (**H38**, **H39**).

W okresie po uzyskaniu stopnia doktora brałam też udział w kilku tematach badawczych realizowanych w ramach badań statutowych, kierowanych przez innych pracowników Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach. Prace te obejmowały następujące zagadnienia: zastosowanie biopreparatu Biosept 33 SL w ograniczaniu rozwoju rdzy malwy ogrodowej *Alcea rosea* (**C4**, **I25**), anatomiczna charakterystyka transgenicznej truskawki ze zmodyfikowanym metabolizmem IAA (**H23**), charakterystyka aparatów szparkowych i wymiana gazowa roślin truskawki w zależności od warunków wzrostu (**C5**, **H28**) oraz badania nad wpływem morfaktyn na wzrost wydłużeniowy i aktywność kambium u *Bryophyllum calycinum* (**C6**). Kontynuowałam również badania nad indukcją tworzenia pędów przybyszowych i zarodków somatycznych w kulturach *in vitro* w rodzaju *Tulipa* (**B4**) i *Pelargonium* (**B6**, **I24**).

Po powrocie z urlopu wychowawczego moja dalsza aktywność naukowa będzie koncentrowała się wokół zagadnień związanych z oceną czystości odmianowej i

tożsamości genetycznej roślin ogrodniczych rozmnażanych *in vitro*. Celem tych prac będzie opracowanie systemu oceny roślin ogrodniczych, który pozwoli uzyskać elitarny materiał nasadzeniowy.

7. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych

7.1. Zestawienie dorobku publikacyjnego przed i po uzyskaniu stopnia doktora

Tabela 1 Zestawienie dorobku publikacyjnego przed i po uzyskaniu stopnia doktora (z włączeniem prac stanowiących rozprawę habilitacyjną)

Rodzaj publikacji	Przed uzyskaniem stopnia doktora	Po uzyskaniu stopnia doktora	Ogółem
Oryginalne prace twórcze opublikowane w czasopismach z obliczonym współczynnikiem wpływu (Impact Factor, IF) umieszczonych w bazie Journal Citation Reports (JCR)	2	12*	14
Oryginalne prace twórcze w czasopismach z listy MNiSW	3	3	6
Pozostałe czasopisma recenzowane	9	7	16
Materiały konferencyjne nierecenzowane opublikowane w całości	6	-	6
Referaty wygłoszone na konferencjach	1	8	9
Plakaty prezentowane na konferencjach			
- międzynarodowych	18	19	37
- krajowych	22	2	24
Rozdziały w monografiach/prace przeglądowe			
- w języku polskim	1	1	2
- w języku kongresowym	-	6	6
Artykuły popularno-naukowe	-	-	-
Patenty, wdrożenia, wzory użytkowe	-	-	-
OGÓŁEM	62	58	120

* w tym 4 publikacje wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej

Tabela 2

Zestawienie dorobku z oceną punktową czasopism zgodnie z rokiem publikacji

Czasopismo	Punkty	Liczba prac		Liczba prac	Suma punktów
		Przed uzyskaniem stopnia doktora	Po uzyskaniu stopnia doktora		
Czasopisma z IF umieszczone w bazie JCR					
Acta Societatis Botanicorum Poloniae (1998)*	7	1		1	7
Plant Cell Tissue and Organ Culture (1999)	11	1		1	11
Acta Biologica Cracoviensia, Ser. Botanica (2003)	10		1	1	10
Acta Societatis Botanicorum Poloniae (2003)	10		1	1	10
Hereditas (2004)	10		1	1	10
Acta Physiologiae Plantarum (2004)	10		1	1	10
Caryologia (2005)	10		1	1	10
Genetics (2006)	24		1	1	24
Euphytica (2006, 2007, 2008, 2009)	20		4	4	80
Genome (2010)	27		1	1	27
Plant Systematic and Evolution (2012)	25		1	1	25
Czasopisma z listy MNiSW					
J of Fruit and Ornamental Plant Research (1998)	3	1		1	3
Phytopathologia Pol. (1999)	4	1		1	4
Biotechnologia (2001)	2	1		1	2
Biuletyn IHAR (2001)	1	1		1	1
Zesz.Probl.Post. Nauk Rol (2005, 2008)	4		2	2	8
Acta Agrobotanica (2013)	7		1	1	7
Pozostałe czasopisma recenzowane					
Zesz.Nauk. AR Kraków Sesja Naukowa (1997)	0	4		4	0
Floriculture and Ornamental Biotechnology (2008)	0		1	1	0
Acta Horticulturae (2012) uwzględnione w <i>Web of Science</i>	10		2	2	20
Acta Horticulturae (2011) nie uwzględnione w <i>Web of Science</i>	0		1	1	0
Acta Horticulturae (1997-2010) uwzględnione w <i>Web of Science</i>	2	2	4	6	12
Med. Fac. Landbw. Rijks Univ. Gent uwzględnione w <i>Web of Science</i>	2	3		3	6
Rozdziały w monografiach					
W języku polskim (2004)	3		1	1	3
W języku angielskim (2011-2012)	5		5	5	25
Inne opublikowane prace naukowe					
Publikacje oryginalne w wydawnictwie zbiorowym nie recenzowanym (materiały ze zjazdów i konferencji)	0	3		3	0
Prace informacyjno-przeglądowe o charakterze tematycznym opublikowane w wydawnictwie zbiorowym nie recenzowanym (materiały ze zjazdów i konferencji)	0	3		3	0
Abstrakty	0	41	22	63	0
OGÓLEM		62	51	113	315

* rok publikacji

7.2. Udział i rola w projektach badawczych krajowych i zagranicznych

1998-2000 – projekt badawczy KBN nr 0756/PO6/98/14 pt. “Weryfikacja statusu mieszańców oddalonych *Ribes* i *Lilium* przy użyciu markerów chromosomowych i molekularnych”, realizowany w Instytucie Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach

rola: wykonawca, **udział:** wykonanie analiz mieszańców lilii i porzeczek z wykorzystaniem techniki RAPD i barwień cytogenetycznych, opracowanie merytoryczne wyników badań

2003-2007 – grant badawczy zamawiany K 074/P04/2003 pt. “Opracowanie metod kontroli jakości (stabilności genetycznej, zdrowotności i statusu fizjologicznego) roślin rozmnażanych *in vitro* – tulipana, narcyza i liliowca”, realizowany w Instytucie Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach

rola: wykonawca, **udział:** ocena stabilności genetycznej tulipanów rozmnażanych *in vitro* przy pomocy fluorescencyjnej hybrydyzacji kwasów nukleinowych *in situ* (FISH) z sondami 45S i 5S rDNA, opracowanie merytoryczne wyników badań

2005-2007 – projekt badawczy finansowany przez JSPS (Japan Society for the Promotion of Science) “Phylogenic study and hybrid identification in *Tulipa* based on analysis of chromosome and polymorphic DNA sequence”, nr projektu P 05186 (w ramach Postdoctoral Fellowship for Foreign Researchers), projekt zrealizowany w Niigata University, Faculty of Agriculture, Lab. of Plant Breeding, Niigata, Japan

rola: główny wykonawca, **udział:** przeprowadzenie badań cytogenetycznych mieszańców tulipana, opracowanie merytoryczne wyników badań

2007-2008 – projekt badawczy finansowany przez Florema Young Plants B.V., Amstelveen, the Netherlands nr 3360100102 pt. “Cytogenetics and GISH of *Elatior Begonias*” realizowany w Wageningen UR Plant Breeding, Wageningen University and Research Center, Wageningen, Holandia

rola: główny wykonawca, **udział:** analiza mieszańców przy użyciu techniki GISH, opracowanie merytoryczne wyników badań

2008-2011 – projekt badawczy nr 3360127501 “Application of GISH-techniques in breeding research of virus resistant forcing tulips”, realizowany w Wageningen UR Plant Breeding, Wageningen University and Research Center, Wageningen, Holandia

rola: wykonawca, **udział:** wykonanie krzyżowań, analizy cytogenetyczne, opracowanie merytoryczne wyników badań

2007-2011 – projekt badawczy nr 3360101900 pt. “Gestapelde resistenties tulp“, projekt realizowany w Wageningen UR Plant Breeding, Wageningen University and Research Center, Wageningen, Holandia

rola: wykonawca, udział: badania cytogenetyczne mieszańców tulipana, opracowanie merytoryczne wyników badań

2009-2010 – projekt badawczy nr 3360127500 finansowanym przez TTI Green Genetics (Technological Topinstitute Green Genetics) pt. "Introgression breeding in large genomes of tulip", zrealizowany w Wageningen UR Plant Breeding, Wageningen University and Research Center, Wageningen, Holandia

rola: wykonawca, udział: przeprowadzenie krzyżowań, analiza mieszańców przy użyciu techniki GISH, opracowanie merytoryczne wyników badań

2009-2010 – projekt badawczy nr 3360126000 finansowanym przez TTI Green genetics (Technological Topinstitute Green Genetics). "Marker assisted breeding for nematode resistance in *Hypericum*"; realizowany w Wageningen UR Plant Breeding, Wageningen University and Research Center, Wageningen, Holandia

rola: wykonawca, udział: przeprowadzenie badań cytologicznych dostarczonych próbek, opracowanie merytoryczne wyników badań

2011 – projekt badawczy nr 3360140400 finansowanym przez TTI Green genetics (Technological Topinstitute Green Genetics), "Introgression breeding in large genomes: marker verification and allele mining of virus resistance in tulip"; realizowany w Wageningen UR Plant Breeding, Wageningen University and Research Center, Wageningen, Holandia

rola: wykonawca, udział: wykonanie analiz mieszańców tulipana w wykorzystaniu technik cytogenetycznych, opracowanie merytoryczne wyników badań

2009-2011 – projekt badawczy nr 3360128200 finansowany przez TTI Green Genetics (Technological Topinstitute Green Genetics), "Bridging the genomes in lily"; realizowany w Wageningen UR Plant Breeding, Wageningen University and Research Center, Wageningen, Holandia

rola: wykonawca, udział: przeprowadzenie badań cytogenetycznych mieszańców lili, opracowanie merytoryczne wyników badań

7.3. Nagrody za działalność naukową

2003 - Nagroda Dyrektora Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach za pracę doktorską

2004 - Nagroda indywidualna I stopnia im. Stefana Barbackiego Instytutu Genetyki Roślin PAN w Poznaniu za wyróżniającą się pracę doktorską

7.4. Wygłoszenie referatów na międzynarodowych lub krajowych konferencjach tematycznych

1. Orlikowski L.B., **Marasek A.** (1999) Chemiczna ochrona wierzb przed rdzą (*Melampsora epitea*). IV Konferencja Szkółkarska "Nowe tendencje w szkółkarstwie ozdobnym - New Trends in Nursery Production". Skierniewice, 18-19 listopada 1999, Materiały z Konferencji: 147-151
2. **Marasek A.**, Hasterok R., Orlikowska T. (2003) The use of different chromosomal markers nucleoli-linked for verification of F₁-hybrids of lily. Eucarpia, 21st International Symposium Section Ornamentals, 25-29 August, Freising-Weihenstephan, Germany, Materiały z Konferencji: 37
3. **Marasek, A.**, Mizuochi H., Okazaki K. (2006). Analyses of genome constitution of Darwin hybrid tulips. Eucaripa XXII int. Symposium Section Ornamentals 'Breeding for Beauty'. Eds. A. Mercuri and T. Schiva. San Remo, Italy, 11-15 September, 2006, Materiały z Konferencji: 38.
4. Podwyszynska M., Niedoba K., Korbin M., **Marasek A.** (2006). Somaclonal variation in micropropagated tulip determined by phenotype and DNA markers. Eucarpia XXII int. Symposium Section Ornamentals 'Breeding for Beauty'. Eds. A. Mercuri and T. Schiva., San Remo, Italy, 11-15 September, 2006. Materiały z Konferencji: 14-15
5. Draper J., Hasterok R., Parker D., Beckmann M., **Marasek A.**, Donnison I.S., Mur L., Armstead I., Bablak P., Jenkins G. (2006) *Brachypodium distachyon* as a model system for grass functional genomics relevant to temperate cereals and forage grasses. Final Abstracts guide for Plant & Animal Genome XIV International Conference, 14-18 January, San Diego, CA, USA, Materiały z Konferencji: 10
6. Draper J., Hasterok R., **Marasek A.**, Donnison IS., Armstead I., King I.P., Wolny E., Idziak D., Jenkins G. (2006) *Brachypodium distachyon* as a potential genomic 'bridge' to physically map grass genomes. Final Abstracts guide for Plant & Animal Genome XIV International Conference, 14-18 January, San Diego, CA, USA, Materiały z Konferencji: 14
7. Podwyszynska M., Niedoba K., Korbin M., **Marasek A.** Rojek A. (2006). Ocena zmienności somaklonalnej tulipana rozmazanych in vitro. XI Ogólnopol. Konf. Kultur in vitro i Biotechnologii Roślin "Kultury in vitro podstawo biotechnologii roślin", Międzyzdroje, 6-9.09.2006, Materiały z Konferencji: 33
8. **Marasek-Ciolakowska A.**, Ramanna M.S., Van Tuyl J. (2008). Introgression of chromosome segments of *Tulipa fosteriana* into *T. gesneriana* detected through GISH and its implications for breeding virus resistant tulips. Xth International Symposium on Flower Bulbs and Herbaceous Perennials April 20-24, 2008 Lisse, The Netherlands, Materiały z Konferencji: 26
9. **Marasek-Ciolakowska A.**, Ramanna M.S., Van Tuyl J. (2009). Introgression breeding in genus *Tulipa* analysed by GISH. XXIIIrd International Eucarpia

symposium Section Ornamentals "Colourful Breeding and Genetics". August 31
– September 4, 2009 Leiden, The Netherlands, Materiały z Konferencji: 37.

7.5. Staże i wizyty w ośrodkach polskich i zagranicznych

- 1994 – Instytut Warzywnictwa im. Emila Chroboczka w Skierniewicach, szkolenie z zakresu technik histologicznych (**2 tygodnie**)
- 1995 – Akademia Rolnicza w Lublinie, Instytut Genetyki i Hodowli Roślin szkolenie z zakresu technik cytogenetyki (**1 tydzień**)
- 1995 – Uniwersytet Śląski, Katedra Anatomii i Cytologii Roślin, szkolenie z zakresu technik cytogenetyki (**1 tydzień**)
- 1998 – The Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Horticultural Plant Breeding, Balsgard, Szwecja (**1 tydzień**)
- 1999 – Marmara Research Centre Gebze, Kacaeli, International Center for Engineering and Biotechnology founded project, Turkey (**2 tygodnie**)
- 2001 – Instytut Genetyki Roślin, Polska Akademia Nauk, Poznań, szkolenia z zakresu technik cytogenetyki molekularnej (**1 tydzień**)
- 2003 – Uniwersytet Śląski, Katedra Anatomii i Cytologii Roślin, szkolenie z zakresu technik cytogenetyki i cytogenetyki molekularnej (**1 tydzień**)
- 2003 – INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), Bourdeaux, Francja (wyjazd w ramach współpracy międzynarodowej Polonium - **1 tydzień**)
- 2004 – IBS University of Wales, Aberystwyth, Wielka Brytania (**6 miesięcy**)
- 2005 – INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) ,Bourdeaux, Villenave d'Ornon, Francja (wyjazd w ramach współpracy międzynarodowej Polonium - **2 tygodnie**)
- 2005 – Uniwersytet Śląski, Katedra Anatomii i Cytologii Roślin, szkolenie z zakresu technik cytogenetyki i cytogenetyki molekularnej (**1 tydzień**)
- 2005-2007 – Niigata University, Faculty of Agriculture, Lab. of Plant Breeding, Niigata, Japonia, **JSPS founded project (2 lata)**
- 2007-2011 – Plant Breeding, Wageningen University and Research Centre, Wageningen, Holandia, **Postdoctoral position (4 lata)**

7.6. Recenzje wydawnicze prac dla czasopism naukowych:

- Hereditas
- Plant Breeding

- Scientia Horticulturae
- Plant Systematic and Evolution
- Acta Horticulturae (trzykrotnie)
- Global Science Books (trzykrotnie) (opracowanie podręcznikowe)

7.7. Przynależność do towarzystw naukowych

- Polskie Towarzystwo Botaniczne

8. Podsumowanie dorobku naukowo-badawczego

Lp.	pozycja	wartość
1.	H-index opublikowanych prac według danych w bazie Web of Sciences	7
2.	sumaryczna ilość punktów wg listy MNiSzW zgodnie z rokiem publikacji w tym przed uzyskaniem stopnia doktora - 38	315
3.	sumaryczna ilość punktów wg listy MNiSzW z 20.12. 2012 w tym przed uzyskaniem stopnia doktora - 66	424
4.	sumaryczna ilość punktów Impact Factor zgodnie z rokiem publikacji	14,675
5.	suma cytowań (wg Web of Sciences na dzień 13. 01. 2014, bez samocytowań)	163
6.	suma wszystkich cytowań (wg Web of Sciences na dzień 13. 01. 2014)	191
7.	liczba opublikowanych prac naukowych	120
8.	liczba oryginalnych publikacji naukowych z IF	14
9.	liczba oryginalnych publikacji naukowych bez IF	22
10.	liczba prac przeglądowych i rozdziałów w monografiach	8
11.	liczba posterów na konferencjach krajowych	24
12.	liczba posterów na konferencjach międzynarodowych	37
13.	liczba recenzji publikacji wykonanych dla czasopism naukowych	10
14.	liczba staży i wizyt w ośrodkach zagranicznych	7

Skiermianice, 16.01.2014
miejsowość, data

Mawsek - Grotelouska
Podpis kandydata