

Dr inż. Agnieszka Tomkowiak
Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Autoreferat

w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego,
w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Poznań 2020

1. Imię i nazwisko: Agnieszka Tomkowiak

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

16.11.2007 – uzyskanie stopnia naukowego doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii, nadany decyzją Rady Wydziału Rolniczego Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu.

Temat rozprawy doktorskiej: **Badanie zależności dystansu genetycznego form rodzicielskich z efektem heterozji.**

Promotor: prof. dr hab. Zbigniew Broda

Recenzenci: prof. dr hab. Andrzej Wojciechowski oraz prof. dr hab. Tadeusz Adamski.

5.06.2003 – uzyskanie tytułu zawodowego magistra inżyniera, specjalizacja: genetyka i hodowla roślin. Praca magisterska wykonana w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin, Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu.

Temat pracy magisterskiej: **Molekularna i cytogenetyczna analiza podwojonych haploidów (DH) pszenicy ozimej *Triticum aestivum* L ssp. *vulgare*.**

Promotor: prof. dr hab. Zbigniew Broda.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

1.10. 2012 – do chwili obecnej - adiunkt w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin na Wydziale Rolnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

1.04.2009 – 30.09.2012 - specjalista w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin na Wydziale Rolnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

3.07. 2006 – 31.03.2009 - referent techniczny w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu.

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy.

Tytuł osiągnięcia naukowego – jednotematycznego cyklu publikacji pod wspólnym tytułem:

Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji kukurydzy (*Zea mays* L.) z wykorzystaniem metod biotechnologicznych.

Wykaz publikacji (P) wschodzących w skład osiągnięcia naukowego:

P1 Tomkowiak A., Broda Z., Moliński K., Molińska-Glura M. 2010. Attempt to adapt a statistical model for the heterosis effect in maize F1 hybrids depending on the genetic distance of parental forms. – Plant Breeding and Seed Science IHAR Nr 62: 43-56.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badawczej, pomiarach biometrycznych w doświadczeniu polowym, wykonaniu analiz laboratoryjnych, interpretacji wyników oraz napisaniu manuskryptu.

Punktacja wg MNiSW (2010): 6

P2 Tomkowiak A., Bocianowski J., Kowalczewski P.Ł. 2020. Dependence of the heterosis effect on genetic distance, determined using various molecular markers. Open Life Sciences 15: 1-11.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badawczej, zaplanowaniu doświadczenia polowego, wykonaniu pomiarów biometrycznych na analizowanym materiale roślinnym, wykonaniu analiz laboratoryjnych, współudziale w przeprowadzeniu analiz statystycznych, interpretacji wyników oraz napisaniu manuskryptu.

Punktacja wg MNiSW (2019): 40 IF (2018): 0,504 IF (5-letni): 0,583

P3 Tomkowiak A., Bocianowski J., Radzikowska D., Kowalczewski P. Ł. 2019. Selection of parental material to maximize heterosis using SNP and SilicoDarT markers in maize. Plants 8(9): 349.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badawczej, zaplanowaniu doświadczenia polowego, wykonaniu pomiarów biometrycznych na analizowanym materiale roślinnym, współudziale w przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu.

Punktacja wg MNiSW (2019): 70 IF (2018): 2,632 IF (5-letni): n/a

P4 Bocianowski J., Nowosad K., Tomkowiak A., 2019. Genotype – environment interaction for seed yield of maize hybrids and lines using the AMMI model. Maydica 64(2)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: współudziale w opracowaniu koncepcji badawczej, zaplanowaniu doświadczenia polowego, współudziale w przeprowadzeniu analiz statystycznych, współudziale w interpretacji wyników oraz napisaniu manuskryptu

Punktacja wg MNiSW (2019): 40 IF (2018): 0,578 IF (5-letni): 0,667

P5 Tomkowiak A., Bocianowski J., Wolko Ł., Adamczyk J., Mikołajczyk S., Kowalczewski P. Ł. 2019. Identification of Markers Associated with Yield Traits and Morphological Features in Maize (*Zea mays* L.). Plants 8(9): 330.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badawczej, zaplanowaniu doświadczenia polowego, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, współudziale w przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, współudziale w przeprowadzeniu analiz statystycznych.

Punktacja wg MNiSW (2019): 70 IF (2018): 2,632 IF (5-letni): n/a

Łącznie dla ww. cyklu publikacji:

Suma punktów MNiSW prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego: **224**

Suma punktów IF prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego: **6,346**

Niezależnie od powyższego zestawienia, wykaz i kopie monotematycznego cyklu publikacji stanowiącego osiągnięcie naukowe oraz oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie tych publikacji zamieszczono w załącznikach nr 5 i nr 6.

Szczegółowe omówienie osiągnięcia naukowego, które zostało opisane w ww. pracach.

Wprowadzenie

Kukurydza *Zea mays* L., zaliczana jest do jednego z najważniejszych i najstarszych gatunków roślin uprawnych. Została udomowiona w regionie Ameryki Środkowej, gdzie uprawiana jest od ok. 4,5 tysięcy lat. Zasięg uprawy kukurydzy jest bardzo szeroki ponieważ uprawiana jest pomiędzy 50°N a 40°S. Gatunek ten dobrze toleruje i adaptuje się w warunkach tropikalnych z dużą ilością opadów. Do Europy kukurydza została sprowadzona przez Kolumba, a w ciągu kolejnych 300 lat stała się bardzo popularna na świecie. Obecnie kukurydza wraz z pszenicą oraz ryżem należą do najważniejszych gospodarczo gatunków zbóż (Betran i in. 2003). Duży wpływ na wzrost znaczenia kukurydzy ma jej wysoki potencjał produkcyjny oraz możliwość wszechstronnego użytkowania plonów (źródło pożywienia, surowiec przemysłowy, różne rodzaje paszy dla zwierząt). Powierzchnia uprawy kukurydzy na świecie w ostatnich latach waha się od 140 do 145 mln ha, z kolei jej produkcja przekracza 600 mln ton ziarna. Nieustający wzrost zasięgu uprawy kukurydzy związany jest z postępowaniem hodowlanym, który między innymi polega na wykorzystaniu zjawiska heterozji oraz tworzeniu mieszańców o mniejszych wymaganiach klimatycznych (Shehata i in. 2009, Berili i in. 2011, Herzog i in. 2014). Bardzo istotny jest również dostęp do coraz nowocześniejszych metod hodowlanych i technologii uprawy. Nieustannie rośnie zapotrzebowanie na nowe odmiany kukurydzy, co sprawia, że jest ona obiektem intensywnych badań genetyczno-hodowlanych.

Prowadząc badania genetyczno-hodowlane należy zwrócić uwagę na specyfikę genomu kukurydzy, który jest mniejszy od genomu pszenicy i wynosi $2n = 20$; $1C = \text{ok. } 2.4\text{--}2.8 \times 10^9 \text{pg}$; ok 59 tys. genów (Messing i in. 2004). Charakterystyczną cechą genomu kukurydzy są węzły chromosomowe (ang. *knobs*) oraz dodatkowe chromosomy B, które są zdecydowanie krótsze od chromosomów A. Przyjmuje się, że chromosomy B są nieczynne genetycznie. Kukurydza wykazuje także predyspozycje do mutacji niektórych *loci*, również tych, które warunkują istotne cechy rolnicze. Genom kukurydzy charakteryzuje się również dużym polimorfizmem, a w wielu analizowanych *loci* identyfikuje się po kilka alleli. Jak wynika z opracowania Messinga i in. (2004) regiony genowe zajmują zaledwie 7,5% całego genomu kukurydzy, natomiast powtarzalne frekwencje to ok. 58% genomu, z czego 56% to retrotranspozony, a reszta to transpozony (mobilne fragmenty genomu) kontrolujące aktywność wielu genów strukturalnych. Bardzo istotnym zjawiskiem genetycznym dla

hodowców jest heterozja plonu ziarna. Mimo, że zjawiskiem heterozji od prawie stu lat zajmowało się i nadal zajmuje wielu naukowców, zagadnienie to nie zostało do końca poznane.

Heterozja jest terminem genetycznym określającym korzystne następstwo krzyżowania, którym jest wigor pierwszego pokolenia mieszańców. Zainteresowanie się bujnością mieszańców i jej praktycznym wykorzystaniem rozpoczęło się w 1880 roku, kiedy Beal stwierdził i opisał istnienie wigoru mieszańców po skrzyżowaniu dwóch odmian populacyjnych. Bardzo często znaczenie gospodarcze zjawiska heterozji można wykazać bez analiz statystycznych, ponieważ jej objawy bywają uderzające. Mimo, że zjawisko heterozji przynosi wymierne korzyści ekonomiczne niestety nie można go utrwalić. Wyjątek stanowią rośliny rozmnażane wegetatywnie np. banany, w przypadku których produkcja została zdominowana przez dwa rozmnażane wegetatywnie mieszańce.

Bardzo często, choć nie zawsze, zjawisko heterozji dotyczy cech ilościowych np. plonowania roślin. Heterozja plonu ziarna jest głównym celem hodowlanym mimo, że niewiele wiemy jak efekty heterozji wpływają na komponenty plonu. Wielu autorów dowodzi, że plon ziarna jest cechą o niskiej odziedziczalności, a brak korelacji pomiędzy poziomem plonowania linii rodzicielskich i ich mieszańców pokolenia F_1 jest efektem dominacji i naddominacji genów (Hochholdinger i in. 2007). W niektórych kombinacjach doświadczalnych pomimo istotności efektów addytywnych, udział efektów nieaddytywnego działania genów w genetycznej wariancji plonu mieszańców pokolenia F_1 często przekraczał 80%. Okazało się, że efekty interakcji ze środowiskiem miały wpływ na ekspresję działania genów (Malvar i in. 2004). W niniejszym opracowaniu zostaną również przedstawione badania na temat interakcji genotypowo–środowiskowych w kontekście wysokości plonowania form mieszańcowych.

W ostatnim dziesięcioleciu wielu naukowców (Baird i in. 2008, Guo i in. 2013, Benke i in. 2015) w swoich badaniach wykorzystano metody biologii molekularnej do wykrywania i zlokalizowania *loci* determinujących plon ziarna i cechy struktury plonu u kukurydzy. Nadal jednak prowadzone są intensywne badania nad poszukiwaniem nowych markerów, które byłyby sprzężone z plonem i jego komponentami. Jak wynika z różnych badań regiony QTL (ang. quantitative trait loci) związane z plonem ziarna i jego komponentami rozłożone są po całym genomie. Z badań prowadzonych przez Beavis i in. (1994) wynika, że najwięcej QTL związanych z plonem ziarna kukurydzy znajduje się na chromosomach 1S, 1L, 2S, 5S, 6L oraz 8L. Autor ten analizował również inne cechy takie jak np. masa hektolitra, dla której zlokalizował regiony QTL na chromosomach 1S, 2S, 3S oraz 5S. Podobne zależności obserwowali także w trakcie swoich badań Austin i in. (2001) oraz Melchinger i in. (1998). Badania związane z identyfikacją QTL dla cech struktury plonu prowadzili również Ribaut i in. (1996) oraz Veldboom i in. (1994), identyfikowali oni regiony związane z takimi cechami jak: liczba rzędów ziarniaków (chromosomy 1L, 4L, 5L, 9S), liczba kolb z rośliny (chromosomy 1S, 1L, 3S, 3L, 6L, 8L), długość kolby (chromosomy 1S, 1L, 3S, 3L, 5S, 6L, 8L) oraz średnica kolby (chromosomy 1L, 2L, 4L, 7L, 8L). W opisie badań własnych również przedstawiłam wyniki dotyczące identyfikacji nowych markerów SNP (ang. single

nucleotide polymorphism) i SilicoDART (ang. Diversity Arrays Technology) związanych z plonem ziarna oraz cechami struktury plonu kukurydzy.

Prowadzone intensywnie analizy molekularne u kukurydzy skupiają się, nie tylko na identyfikacji nowych markerów oraz regionów QTL, ale również w kręgu zainteresowań hodowców analizami DNA leży poszukiwanie metod umożliwiających dobór komponentów rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych (Tang i in. 2009). W tym przypadku chodzi o znalezienie związku pomiędzy plonem mieszańca F_1 a heterogennością *loci* – markerów dla jego form rodzicielskich. Powszechnie wiadomo, że o sukcesie hodowlanym decyduje dostęp do materiałów wyjściowych o dużej różnorodności genetycznej ponieważ dobrze rozpoznany i podzielony na grupy heterotyczne materiał wyjściowy skutkuje obniżeniem kosztów całego procesu hodowli mieszańców (Barata i in. 2006). Materiały roślinne możemy podzielić na grupy heterotyczne według następujących kryteriów: pochodzenie genetyczne (rodowód), wyniki krzyżowania w układach diallelicznych, pochodzenie geograficzne. Niestety przedstawione kryteria podziału są obarczone pewnymi wadami. W wyniku krzyżowania, w układzie diallelicznym otrzymujemy dużo informacji o posiadanym materiale, ale są to metody bardzo kosztowne. Wnioskowanie o zróżnicowaniu genetycznym na podstawie pochodzenia geograficznego jest również zawodne ze względu na wymianę międzynarodową materiałów hodowlanych. W przypadku pochodzenia genetycznego nie zawsze mamy dostęp do pełnej informacji rodowodowej. W związku z powyższym, w ostatnich latach próbuje się selekcjonować komponenty rodzicielskie do krzyżowań heterozyjnych w oparciu o podobieństwo genetyczne pomiędzy liniami rodzicielskimi, wyznaczone przy pomocy markerów molekularnych.

W dobie dynamicznego rozwoju technik molekularnych mamy dostęp do wielu narzędzi i metod biotechnologicznych, niemniej niewiele jest naukowych opracowań dla kukurydzy, w których znalazłoby się porównanie najbardziej popularnych technik i opisane byłoby ich wykorzystanie w analizach tego samego materiału roślinnego. W opracowaniach naukowych wykorzystywane są również różnego rodzaju analizy statystyczne i mierniki. W związku z powyższym, w niniejszym autoreferacie opisane zostały wyniki badań własnych, które dotyczą porównania różnych technik molekularnych oraz różnych metod i mierników statystycznych, które będą mogły zostać wykorzystane w hodowli heterozyjnej kukurydzy.

Tematyka związana z hodowlą heterozyjną od 15 lat znajduje się w obszarze moich zainteresowań. W 2005r. wspólnie z promotorem mojej pracy doktorskiej prof. dr hab. Zbigniewem Brodą otrzymaliśmy pierwszy grant (promotorski) pt. „Badanie zależności dystansu genetycznego form rodzicielskich z efektem heterozji.” W prowadzonych w tym projekcie badaniach po raz pierwszy podjęłam się próby wnioskowania o wielkości efektu heterozji mieszańców F_1 u kukurydzy, żyta i pszenżyta na podstawie podobieństwa genetycznego pomiędzy ich komponentami rodzicielskimi. Początkowo opierałam się na stosunkowo prostych analizach molekularnych typu RAPD (ang. Random Amplification of Polymorphic DNA) i AFLP (ang. Amplified Fragment Length Polymorphism). W kolejnych czterech projektach w swoich badaniach zaczęłam wykorzystywać coraz nowsze narzędzia molekularne, które pozwoliły mi na uzyskanie bardzo interesujących wyników, które

szczegółowo zostały przeze mnie opisane w monotematycznym cyklu publikacji stanowiącym osiągnięcie, o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy.

Hipoteza badawcza i cel badań

Zgodnie z główną hipotezą badawczą zastosowanie nowoczesnych metod biotechnologicznych takich jak różne typy markerów molekularnych (RAPD, AFLP, SSR, SNP, SilicoDArT) oraz sekwencjonowanie nowej generacji, połączone z mapowaniem asocjacyjnym pozwoli na wstępną selekcję komponentów rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych. Pozwoli to również ustalić stopień podobieństwa między liniami wsobnymi w przypadku kiedy nie posiadamy informacji o rodowodzie lub informacje te są niepełne. Dzięki technikom molekularnym, możliwe będzie również identyfikowanie nowych, skutecznych markerów molekularnych lub regionów QTL sprzężonych z plonem i cechami struktury plonu, które pozwolą ograniczyć kosztowne i pracochłonne krzyżowanie w układach diallelicznych. Wszystko to pozwoli na ograniczenie czasu i kosztów wyhodowania nowych odmian kukurydzy.

Prezentowany cykl publikacji jest wynikiem badań, które prowadziłam od 2005r. w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin, a które koncentrowały się na: wyborze modeli statystycznych dla efektu heterozji u mieszańców kukurydzy w zależności od odległości genetycznej form rodzicielskich, wykorzystaniu wielu technik molekularnych i mierników statystycznych w celu określenia zależności efektu heterozji od odległości genetycznej, analizie interakcji genotypowo-środowiskowej w prowadzonych doświadczeniach z wykorzystaniem modelu AMMI oraz identyfikacji nowych markerów SNP i SilicoDArT z wykorzystaniem metody sekwencjonowania nowej generacji.

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego zostały oznaczone literą **P** (publikacja) oraz cyframi arabskimi zgodnymi z wykazem publikacji np. **P1** – publikacja pierwsza w wykazie.

Nadrzędnym celem badań wchodzących w skład publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe była szeroka analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji kukurydzy (*Zea mays* L.).

Główny cel badawczy składał się a poniższych celów szczegółowych:

1° Predykcja wielkości efektu heterozji (z wykorzystaniem modeli matematycznych) na podstawie dystansu genetycznego pomiędzy komponentami rodzicielskimi mieszańców F_1 kukurydzy (**P1**).

2° Wytypowanie najskuteczniejszych systemów markerów molekularnych spośród technik RAPD, AFLP i SSR oraz mierników statystycznych służących do podziału materiału roślinnego na grupy heterotyczne lub selekcji komponentów rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych (**P2**).

3° Ocena przydatności markerów molekularnych SNP oraz SilicoDArT do selekcji komponentów rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych (**P3**)

4° Analiza interakcji genotypowo–środowiskowych w kontekście wysokości plonowania form rodzicielskich i mieszańcowych kukurydzy (**P4**).

5° Identyfikacja i charakterystyka nowych markerów SNP i SilicoDArT związanych z plonem oraz cechami struktury plonu kukurydzy (**P5**).

Material roślinny

Material roślinny do badań został przekazany Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin przez Hodowlę Roślin Smolice Sp. z o. o. Grupa IHAR oraz Małopolską Hodowlę Roślin sp. z o.o.. W skład materiału roślinnego w pierwszej publikacji (**P1**) wchodziło 10 mieszańców F_1 z czego 3 stanowiły zarejestrowane już odmiany wraz z 16 liniami rodzicielskimi. Kolejne doświadczenia realizowane były na materiałach roślinnych, w skład których wchodziło 13 odmian mieszańcowych wraz z 19 liniami rodzicielskimi (**P2, P3 i P4**) oraz 62 linie wsobne (**P5**). Wśród analizowanych linii były zarówno formy o ziarnie szklistym (flint) oraz zębokształtnym (dent). Linie o ziarnie typu flint należały do różnych grup pochodzeniowych. Pierwsza z nich to grupa F2 (spokrewniona z linią F2, która została wyhodowana w INRA we Francji i pochodziła z populacji Lacaune). Druga grupa o nazwie EP1 spokrewniona jest z linią EP1, wyhodowaną w Hiszpanii z populacji z Pirenejów. Kolejną grupą pochodzeniową była grupa o nazwie German Flint (wyhodowana z lokalnej populacji niemieckiej) oraz linie pochodzące z Kanady (z linii Inra258). Linie o ziarnie typu dent również należały do różnych grup pochodzeniowych ze Stanów Zjednoczonych: Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS), Iowa Dent (ID) oraz Lancaster. Analizowane były również linie wsobne o złożonym pochodzeniu wyhodowane z różnych populacji wyjściowych oraz linie o nieznanym pochodzeniu.

Wyniki prowadzonych badań

Hodowla heterozyjna w Polsce podobnie jak w wielu innych krajach na świecie zajmuje priorytetowe miejsce. Niestety wciąż niewiele wiemy o fenomenie heterozji i jego mechanizmach. Możemy jedynie wykorzystać wigor mieszańców F_1 w celu stworzenia odmian heterozyjnych. Jest to bardzo ważny problem dla metodologii hodowli roślin. Oczekuje się, że postęp hodowlany można uzyskać poprzez badania genomów jądrowych, plazmonów oraz analizę ich współzależności i interakcji ze środowiskiem. Jak wspominałam wyżej zagadnieniem tym zajmuje się od 2005 roku. W tym czasie wielu autorów (Becker i Link 2000, Broda i in. 2002) w swoich badaniach stwierdzało, że markery molekularne są najbardziej efektywnym narzędziem służącym do określenia dystansu genetycznego pomiędzy liniami rodzicielskimi. Twierdzili jednocześnie, że analiza dystansu genetycznego pomiędzy komponentami rodzicielskimi umożliwi prognozę efektywności tworzenia nowych odmian mieszańcowych wykazujących z punktu widzenia hodowli ważne użytkowo cechy.

Pojawili się również przeciwnicy tych teorii, którzy byli zdania, że detekcja podobieństwa genetycznego pomiędzy komponentami rodzicielskimi, w oparciu o markery molekularne bywa niewystarczająca w tworzeniu odmian mieszańcowych (Melchinger i in. 1999, Fu i in. 1999). W związku z powyższym podjęłam się analizy tego zagadnienia, zakładając doświadczenie obejmujące trzy gatunki a mianowicie: żyto, pszenżyto i

kukurydzę. Na podstawie uzyskanych wówczas wyników wnioskowałam, że testowane przeze mnie markery molekularne AFLP i RAPD mogą być użyteczne w prognozowaniu formuł mieszańców tylko w przypadku kukurydzy, natomiast nie znajdują zastosowania w wyborze komponentów rodzicielskich do krzyżowań dla żyta i pszenżyta. Mogą być jednak wykorzystane w tych dwóch gatunkach do grupowania linii o niepełnych danych na temat pochodzenia. Jak wykazały badania w przypadku żyta i pszenżyta dobór linii rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych powinien odbywać się głównie w oparciu o analizę istniejącego pomiędzy nimi pokrewieństwa. Linie te powinny być również testowane w warunkach polowych. Obiecujące wyniki, które otrzymałam dla kukurydzy zainspirowały mnie do podjęcia dalszych, bardziej szczegółowych badań na tym gatunku. W wyniku moich dalszych analiz powstało pięć publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe.

1° Predykcja wielkości efektu heterozji (z wykorzystaniem modeli matematycznych) na podstawie dystansu genetycznego pomiędzy komponentami rodzicielskimi mieszańców F1 kukurydzy

W kolejnych badaniach, które dotyczyły kukurydzy zwiększono liczbę testowanych starterów RAPD i AFLP (**P1**). Dla markerów RAPD wyselekcjonowane startery wygenerowały 72 produkty polimorficzne, średnio jeden starter generował od 3 do 9 produktów różnicujących linie rodzicielskie. Najbardziej efektywnym starterem, który najsilniej różnicował badane genotypy był starter OPA 14 (9 produktów polimorficznych). W przypadku markerów AFLP wyselekcjonowano kombinacje starterów, które wygenerowały 56 produktów polimorficznych. Jedna kombinacja starterów generowała średnio od 5 do 16 produktów różnicujących. Największy polimorfizm uzyskano z zastosowaniem kombinacji starterów E-ACG, M-CAC. Wartość dystansu genetycznego pomiędzy liniami rodzicielskimi mieszańców F1 kukurydzy określonego przy pomocy markerów RAPD mieściła się w zakresie od 64% do 93%. Markery molekularne AFLP pozwoliły na określenie dystansu genetycznego, który mieścił się w zakresie od 78% do 96% (**P1**). Dla linii rodzicielskich i mieszańców założono również doświadczenie polowe, na podstawie którego została oszacowana wielkość efektu heterozji. Mieszańcami, u których zaobserwowano najwyższy efekt heterozji (liczony względem lepszego rodzica) dla analizowanych cech struktury plonu były: S160XS336A, S245XS41789, Grom oraz Brda. Pod względem wszystkich analizowanych cech plonotwórczych oraz samego plonu ziarna, mieszańce te przewyższały istotnie linie rodzicielskie. Na szczególną uwagę zasługują obie analizowane odmiany, czyli mieszańce Brda, w przypadku którego efekt heterozji wahał się od 144% dla średnicy rdzenia kolby do 344% dla masy ziarna z kolby oraz mieszańce Grom, dla którego efekt heterozji mieścił się w zakresie od 123% dla MTN do 269% dla masy ziarna z kolby. W przypadku pozostałych mieszańców na uwagę zasługuje fakt, że wykazywały one istotny efekt heterozji dla plonu ziarna. Podobne wyniki obserwowano dla heterozji liczonej względem średniej wartości cechy obu linii rodzicielskich. Wigor mieszańców można było również zaobserwować w warunkach polowych, w trakcie wzrostu i rozwoju roślin. Podczas dokonywania pomiarów biometrycznych również zauważono istotne różnice w wielkości organów generatywnych. Mieszańce F1 odznaczały się zdecydowanie większymi kolbami w

porównaniu do linii rodzicielskich. Na podstawie uzyskanych wyników podjęto próbę dopasowania odpowiedniej funkcji matematycznej w celu opisanie powyższych zależności (P1). Zabieg ten miał pomóc w ewentualnej predykcji efektu heterozji na podstawie dystansu genetycznego pomiędzy liniami wsobnymi. Funkcją opisującą zależność efektu heterozji (liczonego względem lepszego rodzica oraz liczonego względem średniej wartości cechy obu linii rodzicielskich) dla plonu, od dystansu genetycznego określonego przy użyciu markerów molekularnych RAPD był wielomian trzeciego stopnia. Wykorzystując tę funkcję, można podjąć próbę predykcji efektu heterozji w oparciu o wartość dystansu genetycznego pomiędzy komponentami rodzicielskimi, mieszczącego się w zakresie od 64% do 93%. Współczynnik dopasowania funkcji (r^2) dla markerów RAPD wynosił 0,57. Dla markerów AFLP funkcją opisującą zależność efektu heterozji (liczonego względem lepszego rodzica oraz liczonego względem średniej wartości cechy obu linii rodzicielskich) dla plonu był również wielomian trzeciego stopnia. Wykorzystując tę funkcję, można podjąć próbę predykcji efektu heterozji w oparciu o wartość dystansu genetycznego pomiędzy komponentami rodzicielskimi, mieszczącego się w zakresie od 78% do 96%. Dla markerów AFLP współczynnik dopasowania funkcji (r^2) wynosił 0,97 i był wyższy od współczynnika dopasowania funkcji dla markerów RAPD i dokładniej opisywał tę zależność (P1). **W świetle tych badań wnioskowałam, że markery molekularne AFLP i RAPD mogą być użyteczne w wyborze komponentów rodzicielskich do krzyżowań dla kukurydzy ale przy jednoczesnym uwzględnieniu pochodzenia tych komponentów. Do predykcji wielkości efektu heterozji można wykorzystać wielomian trzeciego stopnia. Wyniki te rzuciły nowe światło na zagadnienie zależności efektu heterozji i podobieństwa (dystansu) genetycznego, niemniej stanowiły jedynie wstępne rozpoznanie w tym temacie.**

2° Wytypowanie najskuteczniejszych systemów markerów molekularnych spośród technik RAPD, AFLP i SSR oraz mierników statystycznych służących do podziału materiału roślinnego na grupy heterotyczne lub selekcji komponentów rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych

Ponieważ obecnie dysponujemy wieloma technikami molekularnymi oraz szeregiem różnych platform i narzędzi zarówno statystycznych jak i bioinformatycznych pojawiło się kolejne pytanie, czy wszystkie proponowane metody są jednakowo użyteczne w rozwiązywaniu określonych problemów naukowych, w tym przypadku oszacowania związku pomiędzy podobieństwem genetycznym komponentów rodzicielskich, a efektem heterozji form mieszańcowych. W związku z powyższym zaproponowałam koncepcję nowych badań, które zostały przedstawione w publikacji (P2). W celu poprawnego wnioskowania zwiększono liczbę analizowanych genotypów oraz założono dwuletnie doświadczenie polowe w dwóch lokalizacjach. Zwiększeniu uległa również liczba narzędzi molekularnych oraz rozwiązań statystycznych.

Celem analiz w publikacji P2 było zbadanie zależności między wielkością efektu heterozji mieszańców F1, a podobieństwem genetycznym pomiędzy komponentami rodzicielskimi kukurydzy. W badaniu wykorzystano trzy różne typy markerów molekularnych: SSR, AFLP i RAPD. Podobieństwo genetyczne pomiędzy liniami wsobnymi

dla trzech różnych typów markerów obliczono przy użyciu pięciu współczynników m.in. Jaccarda, Kulczyńskiego, Nei, Rogersa oraz Sokala i Michenera. W celu wybrania najlepszej techniki molekularnej i miernika statystycznego analizowano korelacje podobieństwa genetycznego między komponentami rodzicielskimi z efektem heterozji form mieszańcowych F_1 . Jeżeli chodzi o wielkość efektu heterozji najplenniejszymi mieszańcami były Narew i Popis. Wykazały one największy znaczący efekt heterozji dla większości cech struktury plonu zarówno w 2013 jak i 2014 roku w miejscowości Łagiewniki ($50^{\circ}47'27''N$, $16^{\circ}50'40''E$). Mieszaniec Narew również charakteryzował się największym efektem heterozji w miejscowości Smolice ($51^{\circ}42'20.813''N$, $17^{\circ}9'57.405''E$) w 2013r. Natomiast w 2014r. najwyżej plonującym mieszańcem w Smolicach był Kozak. W kolejnym etapie analiz na podstawie rodowodu udostępnionego mi przez HR Smolice oszacowałam stopień spokrewnienia pomiędzy liniami wsobnymi stanowiącymi komponenty rodzicielskie mieszańców (**P2**). Określenie stopnia spokrewnienia umożliwiło mi weryfikację stopnia przydatności poszczególnych technik molekularnych do szacowania podobieństwa w oparciu o markery molekularne. Stopień pokrewieństwa między komponentami rodzicielskimi analizowanych mieszańców F_1 wynosił od 0% do 50%. Największy stopień pokrewieństwa wystąpił pomiędzy liniami rodzicielskimi mieszańców O Glejt, Wilga, Blask i Grom (50%). Komponenty rodzicielskie mieszańców Popis, Brda i Kozak nie były ze sobą spokrewnione (0%). Wniosuję zatem, że istotne efekty heterozji dla cech struktury plonu i plonu mieszańców Narew, Popis i Kozak były wynikiem braku spokrewnienia lub kilkuprocentowego spokrewnienia (Narew) pomiędzy ich komponentami rodzicielskimi.

Oprócz stopnia spokrewnienia oszacowałam również podobieństwo pomiędzy liniami wsobnymi na podstawie markerów molekularnych (**P2**). W wyniku łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) otrzymałam 528 markerów AFLP, 234 markery RAPD i 262 markery SSR. W oparciu o wyniki analiz molekularnych wykorzystując pięć współczynników (Jaccarda, Kulczyńskiego, Nei, Rogersa oraz Sokala i Michenera) obliczyłam podobieństwo genetyczne pomiędzy komponentami rodzicielskimi, które następnie korelowałam ze stopniem spokrewnienia oraz wielkością efektu heterozji mieszańców F_1 . Z badań przedstawionych w publikacji **P2** wynika, że niezależnie od zastosowanego współczynnika, markery molekularne SSR i AFLP okazały się najlepsze do szacowania podobieństwa genetycznego między komponentami rodzicielskimi kukurydzy, również ze względu na najwyższą korelację pomiędzy wskaźnikami podobieństwa genetycznego a stopniem spokrewnienia. Podobieństwo określone za pomocą markerów molekularnych RAPD było, dla wszystkich analizowanych współczynników, ujemnie skorelowane ze stopniem spokrewnienia między komponentami rodzicielskimi. W przypadku markerów SSR najlepszym współczynnikiem do szacowania podobieństwa genetycznego był współczynnik Jaccarda, dla którego współczynnik korelacji Spearmana (na poziomie istotności 0,05) wyniósł 0,449. Dla porównania, współczynnik Rogersa okazał się najlepszy do szacowania podobieństwa genetycznego, dla markerów AFLP, gdyż w tym przypadku współczynnikiem korelacji Spearmana wyniósł 0,580 (na poziomie istotności 0,05).

W następnym etapie analiz korelowałam otrzymane podobieństwo genetyczne pomiędzy liniami wsobnymi z wielkością efektu heterozji mieszańców F_1 (**P2**). Podobieństwo genetyczne między komponentami rodzicielskimi określone za pomocą markerów

molekularnych SSR (z wykorzystaniem współczynników Jaccarda, Kluczyńskiego, Nei i Rogersa) okazało się ujemnie skorelowane z wielkością efektu heterozji u form mieszańcowych dla większości analizowanych cech struktury plonu. Oznacza to, że im większa odległość genetyczna określona za pomocą markerów SSR, tym większy efekt heterozji mieszańców F1. Podobne wyniki uzyskano dla markerów molekularnych AFLP i współczynnika Rogersa. **Ostatecznie badania wykazały, że do szacowania podobieństwa genetycznego pomiędzy liniami wsobnymi w celu doboru komponentów rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych należy wykorzystać technikę molekularną SSR i współczynniki Jaccarda, Kluczyńskiego, Nei i Rogersa. Z kolei wyniki w publikacji P2 dotyczące techniki AFLP jednoznacznie wskazują, że ten rodzaj markerów molekularnych okazał się mniej przydatny przy wyborze linii rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych, ale może być wykorzystany do wstępnej selekcji materiału roślinnego i jego podziału na grupy heterotyczne oraz do grupowania linii o nieznanym pochodzeniu, co wykazano już w opisanej wyżej publikacji P1.**

3° Ocena przydatności markerów molekularnych SNP oraz SilicoDArT do selekcji komponentów rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych

Szeroki dostęp do najnowszych technik biologii molekularnej, czyli sekwencjonowania nowej generacji zainspirował mnie do kontynuowania zagadnienia związanego z genetycznymi uwarunkowaniami związanymi z efektem heterozji, co zaowocowało kolejnymi wynikami przedstawionymi w publikacji **P3**. Rozwój nowych metod genotypowania opartych na markerach hybrydyzacji lub NGS (ang. Next Generation Sequencing) sprawia, że są one coraz częściej stosowane w badaniach podstawowych. Dostępność dużej liczby markerów SNP lub powtarzalność wyników technologii DArT i ich malejące koszty sprawiają, że nowoczesne metody mają zastosowanie w przypadku ważnych gospodarczo roślin w takich badaniach jak identyfikacja markerów cech fenotypowych oraz selekcja na poziomie całych genomów. Po metody te często sięgamy, gdy kryterium czasu jest ważniejsze niż początkowe nakłady finansowe.

Technologia DArT również sprawdza się jako wydajne narzędzie diagnostyczne do badania różnorodności genotypowej (Wenzl i in., 2004). Markery DArT z powodzeniem zostały wykorzystane do badania różnorodności genetycznej i struktury populacji nie tylko kukurydzy ale również chińskiej pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L). Zbadano łącznie 111 odmian i linii hodowlanych z północnych Chin. Wyniki dostarczyły informacji do dalszej selekcji form rodzicielskich dla potrzeb chińskiego programu hodowli pszenicy (Zhang i in., 2011). Metoda DArT znalazła szerokie zastosowanie w analizie pokrewieństwa np. u owsa (*Avena sp.*), gdzie zbadano 134 odmiany i wyróżniono grupy odpowiadające formom ozimym i jarym (Tinker i in., 2009). Natomiast badania 232 form grochu bengalskiego (*Cajanus cajan*) wykazały niski stopień zróżnicowania materiałów. Spośród 696 markerów DArT tylko 64 okazało się polimorficznych, przy czym wykazano, że formy dzikie są najbardziej zróżnicowane (Yang i in., 2006). Na chwilę obecną nie ma doniesień naukowych na temat wykorzystania technologii DArT do analiz polskich materiałów hodowlanych kukurydzy. W publikacji **P3** wykorzystałam sekwencjonowanie nowej generacji

do wytypowania markerów SNP i SilicoDArT związanych z cechami struktury plonu oraz plonem. Markery SNP i SilicoDArT posłużyły również do badania podobieństwa genetycznego pomiędzy komponentami rodzicielskimi mieszańców F₁. Analiza DArTseq testowanych linii i mieszańców kukurydzy pozwoliła mi zidentyfikować 49 911 polimorfizmów (33 452 SilicoDArT i 16 459 SNP). W sumie do mapowania asocjacyjnego wybrałam 8 192 markery (w tym 8 189 SilicoDArT i trzy SNP). Analiza podobieństwa genetycznego w oparciu o markery SilicoDArT i SNP pozwoliła na wyróżnienie trzech grup podobieństwa (**P3**). Z nielicznymi wyjątkami, w każdej z tych grup znalazły się mieszańce wraz z komponentami rodzicielskimi. Najwyższe podobieństwo genetyczne obliczone na podstawie markerów SilicoDArT i SNP (83%, 80% i 52%) odnotowano między komponentami rodzicielskimi mieszańców O Glejt, M Wilga i Grom w przypadku których stopień spokrewnienia wyniósł 50%. Można zatem stwierdzić, że podobieństwo genetyczne (określone na podstawie markerów SNP i SilicoDArT) między komponentami rodzicielskimi poszczególnych mieszańców odzwierciedla ich stopień spokrewnienia (określony na podstawie analizy rodowodu). Wyjątek stanowił mieszaniec Blask i jego komponenty rodzicielskie. W kolejnym etapie w publikacji **P3** na podstawie mapowania asocjacyjnego zidentyfikowałam 1 678 markerów (1 675 SilicoDArT i 3 SNP), które były istotnie powiązane z badanymi cechami struktury plonu (przy FDR <0,05). Spośród tych markerów wytypowałam 76, które były istotnie skorelowane z co najmniej sześcioma analizowanymi cechami struktury plonu zarówno w 2013 i 2014 r., w Łagiewnikach i Smolicach. Najbardziej znaczącym markerem okazał się 4777143, który był istotnie skorelowany ze wszystkimi cechami struktury plonu we wszystkich środowiskach z wyjątkiem dwóch cech (liczba ziarniaków w rzędzie, średnica rdzenia) analizowanych w Łagiewnikach w 2013 r.

Na podstawie wyników doświadczenia polowego oszacowałam również wielkość efektów heterozji mieszańców F₁ dla cech struktury plonu w poszczególnych środowiskach. Mieszańcami, które wykazały największy znaczący efekt heterozji dla większości analizowanych cech struktury plonu w Łagiewnikach zarówno w 2013, jak i 2014 r. były Narew i Popis. Dobrze plonującymi mieszańcami charakteryzującymi się wysokimi efektami heterozji były również Kozak i M Glejt. Warto zauważyć, że komponenty rodzicielskie tych czterech mieszańców nie były ze sobą spokrewnione lub wykazywały niski stopień pokrewieństwa ze względu na pochodzenie (Narew 4%, Popis 0%, Kozak 0% oraz M. Glejt 13%). Jeżeli chodzi o podobieństwo określone w oparciu o markery SNP i SilicoDArT pomiędzy komponentami rodzicielskimi tych mieszańców wynosi ono dla mieszańca Narew 18%, Popis 26%, Kozak 26% oraz M Glejt 33%. Widać zatem, że nie ma istotnych różnic pomiędzy stopniem spokrewnienia i podobieństwem wyznaczonym w oparciu o markery molekularne. Zarówno w Smolicach jak i Łagiewnikach wyniki prezentowały się podobnie. Dla komponentów rodzicielskich pozostałych mieszańców stwierdzono te same zależności, czyli im większy dystans genetyczny określony przy pomocy markerów SNP i SilicoDArT tym większy efekt heterozji mieszańców F₁. **Ostatecznie badanie to wykazało, że molekularne markery SNP i SilicoDArT mogą być przydatne w doborze komponentów do krzyżowań heterozyjnych ponadto marker 4777143, który był istotnie skorelowany ze wszystkimi cechami struktury plonu we wszystkich środowiskach, w kolejnym projekcie zostanie przekonwertowany na marker specyficzny i przetestowany na**

szerokich materiałach hodowlanych. Pomimo obiecujących wyników analiz molekularnych wnioskowanie o wielkości efektu heterozji przez pryzmat dystansu genetycznego pomiędzy komponentami rodzicielskimi będzie niepełne, jeżeli nie uwzględnimy interakcji genotypowo-środowiskowych. Wobec powyższego zaplanowałam kolejne badania, które zostały opisane w publikacji **P4**.

4° Analiza interakcji genotypowo – środowiskowych w kontekście wysokości plonowania form rodzicielskich i mieszańcowych kukurydzy

Zarówno z badań własnych jak i publikacji naukowych (Święcicki i in. 2011) wynika, że warunkiem koniecznym do osiągnięcia postępu biologicznego w hodowli kukurydzy jest wykorzystanie, nie tylko najnowszych technik biologii molekularnej, ale również metod biometrycznych. W publikacji **P4** wykorzystano zaawansowane metody statystyczne między innymi model AMMI (ang. additive main-effects and multiplicative interaction), dla określenia interakcji genotypowo-środowiskowej (GE). Analizując opracowania innych autorów (Tratwal i in. 2018) można stwierdzić, że model AMMI pozwala dokładniej ocenić efekty interakcji GE niż np. ANOVA w przypadku, której efekty interakcji GE otrzymywane są metodą najmniejszych kwadratów na podstawie stałego modelu. Zdaniem Tratwal i in. (2018) model AMMI jest przydatnym narzędziem służącym do diagnozowania interakcji GE, poprawia precyzję estymacji, a także umożliwia grupowanie genotypów na podstawie podobieństwa obserwowanej cechy i identyfikacji potencjalnych trendów przez środowiska. Model AMMI to model dwuczynnikowy, który w pierwszej kolejności dopasowuje efekty addytywne dla genotypów (G) i środowisk (E), a następnie poprzez analizę składowych (PCA) efekty multiplikatywne dla interakcji genotypowo-środowiskowej (GE). W publikacji **P4** model AMMI został wykorzystany w celu określenia reakcji analizowanych genotypów w dwóch różnych środowiskach glebowo-klimatycznych (Łagiewniki i Smolice). Powszechnie wiadomo, że w hodowli dąży się do wytworzenia odmian o szerokiej adaptacji, które będą dobrze plonowały jeżeli nie we wszystkich, to przynajmniej w dużej liczbie rozpatrywanych środowisk. Analiza wariancji wykazała, że w 77,4% wielkość plonu zależy od genotypu, natomiast warunki środowiskowe wpływają na plon w 14,59%. Z kolei efekt interakcji genotypowo-środowiskowej wyniósł 6,5%. W badaniach wykazałam, że największym średnim plonem ziarna charakteryzował się mieszańiec Popis (15,53 t/h) a najmniejszym linia wsobna S56125A (3,65 t/h). Średni plon ziarna w poszczególnych środowiskach również ulegał wahaniom i mieścił się w przedziale od 6,60 t/ha w Łagiewnikach (2013r.) do 9,95 t/ha w Smolicach (2013r.). Stabilność genotypu określa się na podstawie jego reakcji na zmiany warunków środowiskowych, warunków pogodowych, czynników agronomicznych, stresy biotyczne i abiotyczne. W doświadczeniu model AMMI posłużył również do określenia stabilności badanych genotypów (ASV). Genotyp o wartości ASV bliskiej zeru określa się jako stabilny. **W związku z tym dwie linie S80660A (ASV0,051) i S41336 (ASV0,188) oraz dwa mieszańce Brda (ASV0,290) i Blask (ASV0388) okazały się wysoce stabilne i mogą być rekomendowane do dalszej hodowli (P4). Najmniej stabilne okazały się mieszańce M. Wilga (ASV6.131) i Popis (ASV3.066) oraz linie S64423-2 (ASV2.985) i Co255**

(ASV2.677). Rekomendowane mogą być również komponenty rodzicielskie najwyższej plonującego mieszańca Popis, które odznaczają się wysoką (S54555: ASV0.429) i średnią stabilnością (S79757: ASV1.16). Uzyskane wyniki mają znaczenie praktyczne ponieważ hodowcy zainteresowani są uzyskaniem odmian o szerokiej adaptacji, co zdecyduje o ich sukcesie komercyjnym.

5° Identyfikacja i charakterystyka nowych markerów SNP i SilicoDarT związanych z plonem oraz cechami struktury plonu kukurydzy

Obiecujące wyniki, które zostały opisane w publikacji P3 dotyczące identyfikacji markerów SNP i SilicoDarT, wpłynęły na podjęcie przeze mnie decyzji o ponownym wykonaniu analiz z wykorzystaniem sekwencjonowania nowej generacji, ale na większej i bardziej zróżnicowanej populacji linii wsobnych (P5). Dla przypomnienia pragnę nadmienić, że wśród badanych linii były zarówno formy o ziarnie szklistym (flint) oraz zębokształtnym (dent). Szczegółowo materiał roślinny został opisany w punkcie pt. Materiał roślinny.

Nowoczesne metody identyfikujące polimorfizm pojedynczych nukleotydów SNP, wykorzystują technologię sekwencjonowania nowej generacji (ang. Next Generation Sequencing, NGS). Jako NGS określa się techniki sekwencjonowania opracowane w XXI wieku, zapewniające wyższą wydajność i przepustowość w stosunku do powszechnie stosowanej wcześniej techniki sekwencjonowania Sangera (Sanger et al., 1977). Do najpowszechniejszych technik NGS należą: pirosekwencjonowanie 454 (Roche, 2010), technika Solexa (Illumina), platforma SOLiD (Applied Biosystems), Polonator (Dover/Harvard). Technologia DArTseq (w przeciwieństwie do GBS) dostarcza dużej puli tak zwanych silicoDarTów, które również cechuje dominujący charakter (taki marker albo występuje albo nie, u danego genotypu, ale nie jest powiązany z różnicą w sekwencji DNA danego markera). Celem tego badania była identyfikacja markerów SNP i SilicoDarT związanych z cechami struktury plonu i plonem ziarna.

W pierwszym etapie badań próbowałam analizowane linie wsobne podzielić na grupy heterotyczne na podstawie podobieństwa genetycznego (oszacowanego na podstawie markerów SNP i SilicoDarT). Podobieństwo obliczałam korzystając ze współczynnika Nei i Li (P5). Analizowane linie wsobne pogrupowałam również ze względu na pochodzenie. Szczegółowe informacje na temat pochodzenia otrzymałam z HR Smolice. Następnie sprawdzałam czy w skład grup, które powstały w oparciu o podobieństwo molekularne wchodziły te same linie, które znajdują się w grupach wydzielonych na podstawie pochodzenia. Na podstawie markerów SNP linie zostały podzielone na trzy grupy. Pierwsza grupa obejmowała linię L72 o ziarnie typu dent, należąca do grupy pochodzeniowej Iowa Dent oraz linię L73 o ziarnie typu flint, pochodzącą z Francji. W skład drugiej grupy wchodziło 12 linii o ziarnie typu flint, przy czym linie L40 i L51 pochodzące z Europy wykazywały najwyższe podobieństwo (98%). Rodzicielskie formy linii L40 pochodzą z Francji i Hiszpanii, natomiast L51 z Niemiec. Trzecia grupa obejmowała 27 linii o ziarnie typu dent oraz 3 linie o ziarnie typu flint nieznanego pochodzenia. W skład tej grupy wchodziły linie pochodzące ze Stanów Zjednoczonych a podobieństwo między nimi wahało się od 53% do 97%. W czwartej

grupie znalazło się 14 linii o ziarnie typu dent i 4 linie o ziarnie typu flint. Zmienność podobieństwa genetycznego badanych linii obliczona na podstawie markerów SNP i SilicoDArT nie różniła się znacząco. Powyższe badania pokazują, że markery SNP i SilicoDArT są doskonałym narzędziem do grupowania linii o nieznanym pochodzeniu ponieważ na podstawie analizy tych markerów linie pogrupowały się zgodnie ze swoim pochodzeniem.

W kolejnym etapie badań identyfikowałam markery istotnie związane z cechami struktury plonu i plonem (**P5**). Na szczególną uwagę zasługują markery powiązane z pięcioma lub sześcioma cechami: SilicoDArT 4591115 (powiązany z 6 cechami), SilicoDArT 7059939 oraz SilicoDArT 5587991 (oba powiązane z 5 cechami). Sekwencje (o długości 69pz) SilicoDArT 4591115, 7059939 i 5587991 użyto do mapowania fizycznego. Wykorzystując wyszukiwarke BLAST w genomie referencyjnym kukurydzy zidentyfikowano pozycję markera 4591115. Marker ten zidentyfikowano na chromosomie 5 w regionie nie kodującym. Najbliżej położone geny to oddalony o 60 Kb po stronie 5' gen kodujący białko MYB DNA (GLK47, XM_008683029) oraz gen kodujący białko ściany komórkowej podobne do gp1 (LOC103628816, XM_008648941). Po stronie 3' w odległości 10 Kb znajdował się gen kodujący niescharakteryzowane białko LOC100191236 (NM_001136670.1). **Wyniki przeprowadzonych badań niewątpliwie wskazują na zalety technologii DArTSeq, ponieważ pozwoliła ona wytypować nowe markery istotnie związane z analizowanymi cechami struktury plonu. Podobieństwo genetyczne pomiędzy liniami wsobnymi oszacowane na podstawie markerów SNP i SilicoDArT jest bliskie stopniowi spokrewnienia (oszacowanemu na podstawie analizy rodowodu) pomiędzy tymi liniami. Markery SNP i SilicoDArT pozwalają podzielić materiał hodowlany na grupy heterotyczne oraz mogą być wykorzystane przy doborze komponentów rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych.**

Najważniejsze osiągnięcia poznawcze i aplikacyjne zaprezentowanych badań

1. Stwierdzono, że wielomian trzeciego stopnia był funkcją najlepiej opisującą zależność efektu heterozji (liczonego względem lepszego rodzica oraz liczonego względem średniej wartości cechy obu linii rodzicielskich) od dystansu (podobieństwa) genetycznego określonego przy wykorzystaniu techniki AFLP. Wykorzystując tę funkcję, można podjąć próbę predykcji efektu heterozji u kukurydzy.
2. Wykazano, że największy efekt heterozji występuje u mieszańców F1, których komponenty rodzicielskie są najmniej spokrewnione ze sobą.
3. Stwierdzono, że spośród analizowanych technik molekularnych (RAPD, AFLP i SSR) technika SSR i współczynniki Jaccarda, Kluczyńskiego, Nei i Rogersa mogą być przydatne przy wyborze linii rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych. Markery te mogą być również wykorzystane do wstępnej selekcji materiału roślinnego.

4. Podobieństwo genetyczne pomiędzy liniami wsobnymi oszacowane na podstawie markerów molekularnych SSR było bliskie stopniowi spokrewnienia (oszacowanemu na podstawie analizy rodowodu) pomiędzy tymi liniami.
5. W wyniku sekwencjonowania nowej generacji oraz mapowania asocjacyjnego udało się zidentyfikować marker SNP 4777143, który był istotnie skorelowany ze wszystkimi cechami struktury plonu we wszystkich środowiskach.
6. W badaniach wykazano, że markery molekularne SNP oraz SilicoDArT mają wszechstronne zastosowanie, ponieważ można je wykorzystać do selekcji linii rodzicielskich, do krzyżowań heterozyjnych. Swoje zastosowanie znajdują również do podziału materiału roślinnego na grupy heterotyczne oraz do grupowania linii o nieznanym pochodzeniu.
7. Na podstawie modelu AMMI scharakteryzowano wpływ interakcji genotypowo-środowiskowych na plon ziarna.
8. Wyniki analiz AMMI pozwoliły na wytypowanie linii i mieszańców charakteryzujących się dużą stabilnością plonowania (linie S80660A i S41336 oraz mieszańce Brda i Blask).
9. W wyniku sekwencjonowania nowej generacji na chromosomie 5 w regionie niekodującym zidentyfikowano marker SilicoDArT 5587991 (powiązany istotnie z 5 cechami struktury plonu. Najbliżej położone geny to oddalony o 60 Kb po stronie 5' gen kodujący białko MYB DNA (GLK47, XM_008683029) oraz gen kodujący białko ściany komórkowej podobne do gp1 (LOC103628816, XM_008648941). Po stronie 3' w odległości 10 Kb znajdował się gen kodujący niescharakteryzowane białko LOC100191236 (NM_001136670.1).

Podsumowanie

W cyklu publikacji naukowych, powiązanych tematycznie, które stanowią podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego przedstawiłam wyniki badań własnych dotyczących genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji kukurydzy (*Zea mays* L.). W swoich badaniach zastosowałam bardzo szerokie spektrum różnych metod badawczych, tj. biotechnologicznych oraz statystycznych. W opracowaniach polskich naukowców niewiele jest informacji na temat podłoża genetycznego dotyczącego zjawiska heterozji. Brakuje również doświadczeń opartych na nowoczesnych technikach molekularnych, które byłyby wykonane na polskich materiałach hodowlanych. Wiadomo powszechnie, że postęp w hodowli roślin uzależniony jest od technologii pozwalających na identyfikację markerów cech ilościowych, takich jak profilowanie DNA, czy też ich fenotypowanie. Coraz większe znaczenie zaczynają odgrywać metody statystyczne wykorzystywane w mapowaniu asocjacyjnym i selekcji genomowej. W związku z powyższym za element nowatorski prezentowanego osiągnięcia naukowego uznałam między innymi zidentyfikowanie i zmapowanie nowych markerów, związanych istotnie z wieloma cechami struktury plonu i samym plonem mieszańców F1 kukurydzy. Nie należy zapominać również o tym, że w ostatnich latach obserwuje się zmianę podejścia do selekcji. Zamiast wykorzystywać pojedyncze markery cech, poszukuje się wielu markerów tych cech lub też stosuje całą dostępną pulę markerów, opisujących daną populację dla potrzeb selekcji. W

związku z tym wyniki prezentowanych badań mają również charakter aplikacyjny i stanowią bardzo istotny wkład w rozwój hodowli kukurydzy w Polsce. Przetestowanie wielu technik molekularnych począwszy od najprostszych, a skończywszy na sekwencjonowaniu nowej generacji na materiałach przystosowanych do warunków panujących w Polsce dostarcza hodowcom gotowych narzędzi do prowadzenia selekcji. Większość z zastosowanych metod selekcji związanych było z wykorzystaniem wydajnych technologii markerowych. Na dzień dzisiejszy problem w polskiej hodowli stanowi ograniczona dostępność do najnowszych technik molekularnych i wysokie koszty fenotypowania roślin. Jak wynika z prowadzonych przeze mnie badań dobrą alternatywą, dla kosztownych i niezawodnych markerów SNP i SilicoDArT, są bardziej powszechne markery typu SSR. Dopełnieniem dla zróżnicowanych analiz molekularnych była szczegółowa analiza interakcji genotypowo-środowiskowych, która jest nie mniej ważna dla metodologii w hodowli kukurydzy. Dzięki wykorzystaniu metod statystycznych zaproponowałam również wykorzystanie funkcji matematycznych do ewentualnej predykcji wielkości efektu heterozji. Wyniki badań udokumentowane w cyklu publikacji są bardzo cennym źródłem informacji, nie tylko dla hodowców kukurydzy, ale stanowią również cenne doniesienie naukowe.

Cytowana literatura

1. Austin D.F., Lee M., Veldboom L.R. 2001. Genetic mapping in maize with hybrid progeny across testers and generations: grain yield and grain moisture. *Crop Sci.* 40, 30-39.
2. Baird, N.A.; Etter, P.D.; Atwood, T.S.; Currey, M.C.; Shiver, A.L.; Lewis, Z.A.; Selker, E.U.; Cresko, W.A.; Johnson, E.A. 2008. Rapid SNP Discovery and Genetic Mapping Using Sequenced RAD Markers. *PLoS ONE* 2008, 3, e3376.
3. Barata C., Carena M.J. 2006. Classification of North Dakota maize inbred lines into heterotic groups based on molecular and testcross data. *Euphytica* 151: 339–349.
4. Beavis W.D., Smith O.S., Grant D., Fincher R.R. 1994. Identification of quantitative trait loci using a small sample of topcrossed and F4 progeny from maize. *Crop Sci.* 34, 882-896.
5. Becker H.C., Link W., 2000. Heterosis and hybrid breeding”MCC 2000 Mendel Centenary Congress: 319-327.
6. Benke, A.; Urbany, C.; Stich, B. 2015 Genome-wide association mapping of iron homeostasis in the maize association population. *BMC Genet.* 16: 1.
7. Berilli, A.P.C.G.; Pereira, M.G.; Gonçalves, L.S.A.; da Cunha, K.S.; Ramos, H.C.C.; Souza Filho, G.A.; do Amaral Júnior, A.T. 2011. Use of molecular markers in reciprocal recurrent selection of maize increases heterosis effects. *Genet. Mol. Res.* 10: 2589–2596.
8. Betrán FJ, Ribaut JM, Beck D, de León DG. 2003. Genetic Diversity, Specific Combining Ability, and Heterosis in Tropical Maize under Stress and Nonstress Environments. *Crop Sci.* 43(3):797.
9. Broda Z., Gniazdowska A., Mikołajczyk S., Szolkowski A., 2002. Wykorzystanie markerów RAPD do analizy genetycznej różnorodności linii wsobnych żyta (*secale cereale L.*) i ich doboru do krzyżowań heterozyjnych (F1) PTPN Tom 93: 87-92.
10. Fu Y.B. 1999. Patterns of the purging of deleterious genes with synergistic interactions in different breeding schemes. *Theor. Appl. Genet.* 98: 337-346.
11. Guo, Z.; Tucker, D.M.; Wang, D.; Basten, C.J.; Ersoz, E.; Briggs, W.H.; Lu, J.; Li, M.; Gay, G. 2013. Accuracy of Across-Environment Genome-Wide Prediction in Maize Nested Association Mapping Populations. *G3 Genes Genomes Genet.* 3: 263–272.
12. Herzog, E.; Falke, K.C.; Presterl, T.; Scheuermann, D.; Ouzunova, M.; Frisch, M. 2014. Selection Strategies for the Development of Maize Introgression Populations. *PLoS ONE*: 9, e92429.

13. Hochholdinger F., Hoecker N. 2017 Towards the molecular basis of heterosis. *Trends in Plant Science* 12 (9): 427-432.
14. Malvar R.A., Revilla P., Butrona A., Gouesnard B., Boyatc A., Soengasa P., Alvarez A., Ordasam A. 2004. Performance of crosses among French and Spanish Maize populations across environments. *Crop Science Society of America* 45 (3): 1052-1057.
15. Melchinger A.E., Utz H., Schön C.C. 1998. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent population samples in maize reveals low power of QTL detection and large bias in estimates of QTL effects. *Genetics* 149 (1), 383-403.
16. Melchinger A.E., 1999. Genetic diversity and heterosis w: The genetics and exploitation of heterosis in crops. *Wisconsin*: 99 – 118.
17. Messing J., Bharti A.K., Karlowski W.M., Gundlach H., Kim H.R., Yu Y., Wci F., Fuks G., Soderlund C.A., Mayer K.E. Wing R.A. 2004. Sequence composition and genome organization of maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 14349-14354.
18. Ribaut J. I in. 1996. Identyfication of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. Flowering parameters and the anthesis-silking interval. *Theor. Appl. Genet.* 92(7) 905-914.
19. Sanger, F.; Nicklen, S.; Coulson, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 5463–5467.
20. Shehata, A.I.; Al-Ghethar, H.A.; Al-Homaidan, A.A. 2009. Application of simple sequence repeat (SSR) markers for molecular diversity and heterozygosity analysis in maize inbred lines. *Saudi J. Biol. Sci.* 16: 57–62.
21. Święcicki W.K., Surma M., Koziara W., Skrzypczak G., Szukała J., Bartkowiak-Broda I., Zimny J., Banaszak Z., Marciniak K. 2011. Nowoczesne technologie w produkcji roślinnej – przyjazne dla człowieka i środowiska. *Polish Journal of Agronomy* 7: 102-112.
22. Tang J., Yan Y., Ma X., Teng W., Wu W., Dai J., Dhillon B.S., Melchinger A.E., Li J. 2009. Dissection of the genetic basis of heterosis in an elite maize hybrid by QTL mapping in an immortalized F₂ population. *Theoretical Applied Genetic* 120: 333–340.
23. Tinker N.A., Kilian A., Wight C.P., Heller-Uszynska K., Wenzl P., Rines H.W., Bjørnstad Å., Howarth C.J., Jannink J.L., Anderson J.M., et al. 2009. New DArT markers for oat provide enhanced map coverage and global germplasm characterization. *BMC Genom.*10:39.
24. Tratwal A., Nowosad K., Bocianowski J. 2018. Zastosowanie modelu AMMI do analizy interakcji genotypowo-środowiskowej masy tysiąca ziaren jęczmienia jarego. *Prog. Plant Prot.* 58(4): 251-255.
25. Veldboom L., Lee M. 1994. Molecular-marker-facilitated studies of morphological traits in maize. Determination of QTLs for grain yield components. *Theor. Appl. Genet.* 89,451-458.
26. Wenzl P., Carling J., Kudrna D., Jaccoud D., Huttner E., Kleinhofs A., Kilian A. 2004. Diversity Arrays Technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 01:9915–9920.
27. Yang S., Pang W., Ash G., Harper J., Carling J., Wenzl P., Huttner E., Zong X., Kilian A. 2006. Low level of genetic diversity in cultivated Pigeonpea compared to its wild relatives is revealed by diversity arrays technology. *Theor. Appl. Genet.*113:585–595.
28. Zhang L., Liu D., Guo X., Yang W., Sun J., Wang D., Sourdille P., Zhang A. 2011. Investigation of genetic diversity and population structure of common wheat cultivars in northern China using DArT markers. *BMC Genet.* 12:42.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

W Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin należącej najpierw do Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, obecnie do Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu jestem zatrudniona od 2006 roku. Problematyka naukowa, którą realizuję w swoich

doświadczeniach znajduje się w obszarze trudnych badań z zakresu biotechnologii, o dużych wartościach zarówno poznawczych jak i aplikacyjnych. Badania te polegają na poznaniu złożonych mechanizmów związanych ze zjawiskiem heterozji, odpornością u zbóż, zdolnościami roślin do regeneracji w kulturach in-vitro a także adaptacją soi do warunków panujących w Polsce. W mniejszym zakresie prowadziłam również badania związane z występowaniem chorób powodowanych przez fuzariozy u lnu, badania zróżnicowania genetycznego lnianki siewnej, badania zróżnicowania genetycznego roślin motylkowych, między innymi lucerny oraz koniczyny. W trakcie prowadzenia doświadczeń zdobyłam duże umiejętności stosowania złożonych procedur metodycznych, niezbędnych do badania genomu roślinnego na poziomie molekularnym. Zdobyte posiadanych umiejętności związane jest między innymi z szeroką współpracą, z innymi jednostkami naukowymi jak również firmami hodowlanymi.

Temat związany z szeroką analizą genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji u kukurydzy (*Zea mays* L.) prowadziłam we współpracy z kilkoma ośrodkami naukowymi. Jednym z pierwszych ośrodków był: Instytut Genetyki Roślin PAN, gdzie w Zespole Genomiki Porównawczej Roślin Strączkowych pod opieką naukową prof. dr hab. Wojciecha Świącickiego i dr hab. Magdaleny Gawłowskiej zgłębiałam wiedzę na temat otrzymywania markerów molekularnych AFLP i SSR. Obie metody implementowałam do Katedry Genetyki i Hodowli Roślin UP w Poznaniu, co umożliwiło mi wykonanie wielu ważnych analiz i zaowocowało wieloma poniższymi publikacjami. Zdobyte umiejętności pozwoliły mi na podjęcie kolejnej współpracy, tym razem z pracownikami Katedry Genetyki, Hodowli Roślin i Nasiennictwa, prof. Henrykiem Bujakiem oraz dr hab. Kamilą Nowosad. Dzięki tej współpracy realizowano wspólny projekt w ramach dotacji MRiRW, którego byłam wykonawcą. Współpraca ta zaowocowała opublikowaniem monografii. Poszukiwanie coraz nowszych, bardziej zaawansowanych metod molekularnych skłoniło mnie do nawiązania kolejnej współpracy, tym razem z Diversity Arrays Technology w Australii a w szczególności z dr. Andrzejem Kiljanem. Profesor wyjaśnił mi szczegóły metodyczne dotyczące zagadnień związanych z sekwencjonowaniem nowej generacji. Dzięki tej współpracy powstały dwie publikacje, które wchodzi w skład mojego dokonania naukowego. Przeprowadzenie wszystkich tych badań nie byłoby możliwe, gdyby nie bardzo dobrze opisany i skolekcjonowany materiał roślinny, który w ramach wzajemnej współpracy został mi przekazany przez Hodowlę Roślin Smolice sp. z o.o. Grupa IHAR oraz Małopolską Hodowlę Roślin sp. z o.o..

Broda Z., **Tomkowiak A.**, Dobek A., Brukwiński W. 2006. Badanie zależności efektu heterozji żyta (*Secale cereale*) od dystansu genetycznego. – Prace Komisji Nauk Rolniczych i Komisji Nauk Leśnych PTPN 100: 149-157.

Broda Z., **Tomkowiak A.**, Mackiewicz D., Dobek A., Woś H., Woś J., Warzecha R., Warzecha K. 2005. Analiza zróżnicowania genetycznego linii pszenżyta przydatnych do hodowli mieszańców przy użyciu markerów molekularnych. Biuletyn IHAR 237/238: 83-92.

Tomkowiak A., Kociszewska K., Bocianowski J., Mikołajczyk S., Kurasiak – Popowska D., Weigt D., Nowosad K., Bujak H., Nawracała J. 2017. Badanie podobieństwa genetycznego między liniami wsobnymi kukurydzy przy użyciu markerów molekularnych SSR. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 591: 97-106

Tomkowiak A., Broda Z., Moliński K., Molińska Glura M., Adamczyk J. 2013. Analysis of the relationship between coefficients of relatedness and molecular similarity of parental forms with respect to the heterosis effect in maize. Biometrical Letters 50(1): 39 - 52.

Broda Z., Tomkowiak A., Moliński K. 2008. Wybór modelu matematycznego określającego zależność efektu heterozji mieszańców F1 od dystansu genetycznego form rodzicielskich żyta i pszenżyta. Biuletyn IHAR 250: 161-176.

Oprócz zagadnień związanych ze zjawiskiem heterozji wiele lat pracy i czasu poświęciłam badaniom związanym z hodowlą odpornościową zbóż. W temacie tym również staram się podążać za najnowszymi trendami, jeżeli chodzi o metody badawcze. Chęć nieustannego zdobywania wiedzy zaowocowała współpracą z wieloma naukowcami. W kręgu moich zainteresowań leżą zagadnienia związane z ekspresją genów odporności na rdzę brunatną *Lr34* oraz *Lr46*. W temacie tym nawiązałam współpracę z dr. Evansem Lagudah, który jest głównym naukowcem w CSIRO Plant Industry z siedzibą w Canberra w Australii. Dzięki dr Lagudah zdobyłam wiele szczegółowych informacji na temat analizowanych genów. Zdobyte informacje zainspirowały mnie do rozpoczęcia badań związanych z ekspresją tych genów. W celu wzbogacenia swojego warsztatu metodycznego nawiązałam współpracę z pracownikami Zakładu Biosyntezy Białka Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN, prof. dr hab. Tomaszem Twardowskim i dr Agatą Tyczewską. W pracowni powyższego Zakładu odbyłam sześciotygodniowy staż, w trakcie którego opanowałam wiele nowych technik molekularnych, między innymi metody analizy ekspresji genów z wykorzystaniem ddPCR. Metoda ta została również wprowadzona do Katedry Genetyki i Hodowli Roślin UP w Poznaniu. Dzięki współpracy z dr. Arletą Malewską, która zaprosiła mnie na szkolenie dotyczące profilowania ekspresji miRNA podjęłam decyzję o napisaniu grantu w ramach Narodowego Centrum Nauki, który otrzymałam w 2019 roku i którego jestem kierownikiem. Grant dotyczy analizy ekspresji miRNA związanego z genami *Lr34* i *Lr46* w odpowiedzi na porażenie roślin grzybem *Puccinia Recondita* sp. *Tritici*. W trakcie realizacji tego grantu nawiązałam również współpracę z dr hab. Pauliną Jackowiak z Zakładu Biologii Molekularnej i Systemowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN, u której gościnnie dopracowywaliśmy szczegóły metodyczne analiz ddPCR.

Badania, które prowadzę w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin UP w Poznaniu dotyczące hodowli odpornościowej, mają nie tylko charakter badań podstawowych ale również należą do badań aplikacyjnych. Przez wiele lat dopracowywałam warunki metod identyfikacji markerów dla genów odporności na choroby grzybowe. Identyfikowałam w ramach wielu prac magisterskich geny odporności na rdzę brunatną (*Lr11*, *Lr13*, *Lr16*, *Lr19*, *Lr34*, *Lr46*, *Lr50*) oraz geny odporności na mącznika prawdziwego (*Pm2*, *Pm3a*, *Pm4b*, *Pm6*) u pszenicy i żyta. Badania te zaowocowały wieloma publikacjami podanymi poniżej. Pragnę nadmienić, iż prawie we wszystkich tych publikacjach jestem pierwszym autorem, twórcą koncepcji badawczej i głównym wykonawcą doświadczeń. Dla markerów tych genów opracowałam również warunki multiplexPCR, aby skrócić czas selekcji odmian odpornych. Tematy związane z odpornością roślin realizowałam również jako wykonawca w ramach konsorcjum BIOTRIGEM, współpracując z Instytutem Genetyki Roślin PAN. W toku analiz zidentyfikowałam wiele efektywnych, dających powtarzalne wyniki markerów, które umożliwiają szybką selekcję odmian odpornych, a to pozwala na skrócenie cyklu hodowlanego i obniżenie kosztów. Współpraca w ramach konsorcjum BIOTRIGEM przyczyniła się do powstania wspólnej monografii, dotyczącej wykorzystania metod biotechnologicznych w hodowli pszenicy. Tematy związane z odpornością roślin na choroby

grzybowe realizowałam także we współpracy ze spółkami hodowlanymi między innymi: Danko HR sp. z o. o., Poznańska HR sp. z o. o., Małopolska HR sp. z o. o.

Tomkowiak A., Kurasiak-Popowska D., Grynia J., Nawracała J., Mikołajczyk S., Weigt D., Niemann J., Kiel A. 2017. Ocena przydatności markerów molekularnych *Xgwm205*, *Xcfd81*, *Whs350* do identyfikacji genu odporności *Pm2* na mączniaka prawdziwego zbóż i traw (*Blumeria graminis f. sp. tritici*) u odmian pszenicy o zróżnicowanym pochodzeniu. Progress in Plant Protection 57(2): 146-152.

Tomkowiak A., Kurasiak – Popowska D., Weigt D., Mikołajczyk S., Nawracała J., Grynia J. 2017. Identyfikacja genów *Pm2*, *Pm3a*, *Pm4b* i *Pm6* w wybranych odmianach i linii pszenicy zwyczajnej. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 591: 43-51.

Tomkowiak A., Pawlak D., Nawracała J., Kurasiak-Popowska D., Weigt D., Mikołajczyk S., Niemann J., Pluta M. 2015. Identyfikacja genu odporności na rdzę brunatną (*Puccinia recondita*) z wykorzystaniem markera *Xgdm87* w polskich odmianach pszenicy ozimej. Progress in Plant Protection 55(4): 381-385

Tomkowiak A., Skowrońska R., Weigt D., Kwiatek M., Nawracała J., Kowalczewski P.L., Pluta M. 2019. Identification of Powdery Mildew *Blumeria graminis f. sp. tritici* Resistance Genes in Selected Wheat Varieties and Development of Multiplex PCR. Open Chemistry 17: 157-165.

Tomkowiak A., Skowrońska R., Buda A., Kurasiak-Popowska, Nawracała J., Kowalczewski P., Pluta M., Radzikowska D. 2019. Identification of Leaf Rust Resistance Genes in Selected Wheat Cultivars and Development of Multiplex PCR. Open Life Sciences. 14: 327-334

Tomkowiak A., Kurasiak-Popowska D., Mikołajczyk S., Weigt D., Niemann J., Kiel A., Lisewska A., Nawracała J., Matysik P., Rokicki M., Bocianowski J. 2016. Identyfikacja genu odporności na rdzę brunatną *Lr19* w zagranicznych odmianach pszenicy ozimej *Triticum aestivum* L. Progress in Plant Protection 56(3): 318-323.

Tomkowiak A., Kurasiak-Popowska D., Kiel A., Weigt D., Nawracała J., Mikołajczyk S., Niemann J. 2016. Identyfikacja genów odporności na rdzę brunatną *Lr19* i *Lr50* w polskich materiałach hodowlanych pszenicy ozimej. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 584: 95-102.

Tomkowiak A., Kurasiak-Popowska D., Weigt D., Niemann J., Nawracała J. 2018. Identyfikacja genów odporności na rdzę brunatną (*Puccinia triticina*) *Lr11*, *Lr13* i *Lr16* u odmian pszenicy zwyczajnej o zróżnicowanym pochodzeniu. Progress in Plant Protection 58(3): 181-186.

Skowrońska R., Kwiatek M., **Tomkowiak A.**, Nawracała J. 2019. Development of multiplex PCR to detect slow rust resistance genes *Lr34* i *Lr46* in wheat. Journal of Applied Genetics 60: 301-304.

Szwarc J., Kurasiak-Popowska D., **Tomkowiak A.**, Skowrońska R. 2019. Molekularna ocena odporności na mączniaka prawdziwego zbóż i traw (*Blumeria graminis f. sp. tritici*) wybranych genotypów pszenicy ozimej analizowanych w doświadczeniach porejestrowych. Progress in Plant Protection 59(1): 46-52.

Kiel A., Weigt D., Karpińska M., Kurasiak-Popowska D., Niemann J., **Tomkowiak A.**, Mikołajczyk S., Nawracała J. 2020. An analysis of the functionality of molecular markers related to the *Lr19* gene conditioning resistance to wheat leaf rust. Zemdirbyste-Agriculture 107 (1): 63-70.

Kurasiak-Popowska D., **Tomkowiak A.**, Weigt D., Mikołajczyk S., Nawracała J. 2017. Polowa ocena odporności na mączniaka prawdziwego zbóż i traw (*Blumeria graminis f. sp. tritici*) oraz identyfikacja genu *Pm2* w wybranych genotypach pszenicy ozimej. Progress in Plant Protection 57(2): 135-140.

W ramach konsorcjum BIOTRIGEN współpracowałam również z Zespołem Fenotypowania i Genotypowania Zbóż, z dr hab. Anetą Kuczyńską w temacie dotyczącym identyfikacji markerów dla genów półkarłowatości *Rht-B1*, *Rht-D1* oraz *Rht8*. W toku analiz udało się zidentyfikować funkcjonalne markery, które będą mogły być wykorzystane do selekcji materiałów roślinnych pszenicy. Dzięki tej współpracy powstały poniższe publikacje.

Weigt D., Kiel A., Nawracała J., Kurasiak-Popowska A., **Tomkowiak A.**, Mikołajczyk S., Niemann J. 2016. Identyfikacja genu karłowatości *Rht-D1b* u różnych form pszenicy zwyczajnej z wykorzystaniem markerów specyficznych DNA. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 585: 159-167.

Tomkowiak A., Manikowska M., Kurasiak-Popowska D., Weigt D., Nawracała J., Mikołajczyk S., Niemann J. 2016. Identyfikacja genu *Rht8* z wykorzystaniem markera *GWM 261* u form pszenicy zwyczajnej o zróżnicowanym pochodzeniu. Nauka Przyroda Technologie 10(2): 1-8.

Od 2018 roku ściśle współpracuje z Zespołem Struktury i Funkcji Genów między innymi z dr Sandrą Rychel i dr hab. Michałem Książkiewiczem w ramach dotacji MRiRW. Głównym celem tej dotacji jest identyfikacja układów allelicznych genów fotoneutralności i wczesności u soi. W projekcie tym analizuję układy alleliczne genotypów soi, dla genów wczesności kwitnienia (*E2*, *E3*, *E4*, *E7*) i zdeterminowania wzrostu (*Dt1*). Materiał roślinny stanowi 150 genotypów o różnym pochodzeniu. Współpracuję również z Instytutem Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu. Współpraca dotyczy realizacji zagadnień związanych z identyfikacją gatunków *Fusarium*, które znajdują się na porażonych roślinach lnu. W trakcie pobytu na wykładach w ramach programu Erasmus + na Litwie oraz w Turcji nawiązałam również współpracę z Latvia University of Agriculture oraz Ege University.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego.

1° Promotor Pomocniczy od dnia 12 grudnia 2014 r. Opieka nad pracą doktorską Pani mgr. Joanny Grynii. Temat pracy „Identyfikacja funkcjonalnych markerów molekularnych dla genów odporności na wybrane choroby grzybowe pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) oraz ocena ekspresji cechy w zależności od genotypu rośliny.”

Cykl wykładów w ramach Staff Mobility For Teaching (Erasmus+)

1° Wykłady od 21 do 24 maja 2019r. na: Ege Üniversitesi Kampüsü Öğrenci İşleri Daire Başkanlığı Fen Fakültesi F Blok 35100 Bornova – İzmir Turkey.

2° Wykłady od 10 do 14 września 2018r. na: Latvia University of Life Sciences and Technologies – Jelgava Latvia.

Czynny udział w organizacji i prowadzeniu wykładów i ćwiczeń w ramach projektów Unijnych

1° Projekt pod tytułem „Przyroda od A do Z. Pozaszkolne zajęcia edukacyjne w ramach Uniwersytetu Młodych Przyrodników” o numerze POWR.03.01.00-00-U134/17, realizowany w ramach POWER, Oś Priorytetowa III - Szkolnictwo wyższe dla gospodarki i rozwoju. Działanie 3.1 Kompetencje w szkolnictwie wyższym, na podstawie umowy nr UDA-POWR.03.01.00-00-U100/17-00 zawartej z Instytucją Pośredniczącą w dniu 14.08.2018r.,

współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego – wykładowca na wykładach i ćwiczeniach dla dzieci ze szkół podstawowych.

2° Projekt pod tytułem „Najlepsi z natury!” - Zintegrowany Program Rozwoju Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu” POWR.03.05.00-00-z228/17, współfinansowany ze środków Unii Europejskiej – wykładowca na studiach anglojęzycznych.

3° Projekt Europejska Noc Naukowców realizowany w ramach Programu Ramowego Unii Europejskiej HORIZON 2020 – czynne uczestnictwo w zajęciach laboratoryjnych w edycjach:

- EPICNIGHT – 25 wrzesień 2015 r.
- EVERYDAYNIGHT – 30 wrzesień 2016 r.
- EVERYDAYNIGHT – 29 września 2017 r.
- UNIGHTED – 28 września 2018 r.
- UNIGHTED – 27 września 2018 r.

Studia podyplomowe

1° Studia podyplomowe „Nowoczesne Technologie w Produkcji Roślinnej” – wykładowca

Inne osiągnięcia dydaktyczne:

1° Udział w XX, XXI i XXII Poznańskim Festiwalu Nauki i Sztuki – prowadzenie zajęć laboratoryjnych dla zwiedzających Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, w dniach:

- 8-11. 04. 2019 r.
- 22-26. 04. 2018 r.
- 23-26. 04. 2017 r.

2° Udział w organizacji tzw. „Wagarów z Przyrodą” na Wydziale Rolnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz prowadzenie zajęć laboratoryjnych dla młodzieży licealnej w dniach 21.03.2018 r. oraz 21.03.2017 r..

3° Promowanie Uniwersytetu Przyrodniczego i Katedry Genetyki i Hodowli Roślin na Międzynarodowej Wystawie Agro Show w Bednarach „Dla rolnika dla natury” w 2015 r.

4° Kierownik przedmiotu Biotechnological research of environmental sciences prowadzonego na Wydziale Rolnictwa i Bioinżynierii, na kierunku Ochrona Środowiska.

5° Kierownik przedmiotu „Inżynieria genetyczna” prowadzonego na Wydziale Rolnictwa i Bioinżynierii, na kierunku Rolnictwo.

6° Opracowanie i prowadzenie ćwiczeń z Genetyki roślin, Inżynierii genetycznej, Agrobiotechnologii, Podstaw odporności na agrofagi dla Kierunku Rolnictwo na Wydziale Rolnictwa i Bioinżynierii.

7° Opracowanie i prowadzenie ćwiczeń z Hodowli odpornościowej roślin dla kierunku Medycyna Roślin na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu.

Opieka naukowa nad studentami w toku specjalizacji

Promotor prac magisterskich

- 1° Kinza Khan 2020 r.: Identyfikacja markerów związanych z cechami androgensnymi w różnych formach pszenicy zimniej.
- 2° Adam Ajtner 2019 r.: Identyfikacja układów allelicznych genów fotoneutralności i wczesności u soi.
- 3° Ewelina Irena Staszak 2019 r.: Identyfikacja genów wczesności kwitnienia oraz zdeterminowania wzrostu u różnych odmian soi.
- 4° Marcelina Szymczak 2019 r.: Badanie podobieństwa genetycznego pomiędzy liniami wsobnymi kukurydzy przy użyciu markerów molekularnych SSR.
- 5° Dawid Mieczysław Śleszyński 2019 r.: Identyfikacja genów odporności na rdzę brunatną z wykorzystaniem multiplex PCR oraz ocena poziomu stopnia porażenia różnych genotypów pszenicy zwyczajnej.
- 6° Roksana Skowrońska 2018 r.: Identyfikacja genów odporności na mączniaka prawdziwego zbóż i traw (*Blumeria graminis f. sp. tritici*) w wybranych odmianach pszenicy zwyczajnej oraz opracowanie warunków multiplex PCR.
- 7° Alicja Sylwia Buda 2018 r.: Identyfikacja genów odporności na rdzę brunatną w wybranych odmianach pszenicy zwyczajnej oraz opracowanie warunków multiplex PCR.
- 8° Katarzyna Kociszewska 2017 r.: Badanie podobieństwa genetycznego pomiędzy formami rodzicielskimi mieszańców liniowych kukurydzy przy użyciu markerów molekularnych SSR.
- 9° Magdalena Manikowska 2015 r.: Identyfikacja genu *Rht8* przy wykorzystaniu markerów *WMS 102* i *WMS 484* u form pszenicy zwyczajnej o zróżnicowanym pochodzeniu.
- 10° Patrycja Bernat 2015 r.: Zmienność alleliczna w *locus WMS 296* u form pszenicy o zróżnicowanym pochodzeniu.
- 11° Magdalena Agnieszka Nowak 2015 r.: Wykorzystanie specyficznych markerów SSR do identyfikacji genów półkarłowatości u różnych form pszenicy zwyczajnej.
- 12° Paweł Antczak 2015 r.: Ocena potencjału plonowania soi w zależności od obsady roślin.
- 13° Dominika Pawlak 2014 r.: Zmienność alleliczna w *locus Xgdm87* u form pszenicy o zróżnicowanym pochodzeniu.
- 14° Joanna Mazur 2014 r.: Identyfikacja genów odporności na rdzę brunatną z wykorzystaniem markera *Xgwm382* u form pszenicy ozimej.

Promotor prac inżynierskich

- 1° Anna Surma 2020 r.: Identyfikacja układów allelicznych genów wczesności (*E2*, *E3*, *E7*) i zdeterminowania wzrostu (*Dt1*) u różnych odmian i linii soi.
- 2° Konstancja Piasecka 2020 r.: Ocena przydatności markerów molekularnych do identyfikacji genów odporności na rdzę brunatną *Lr34* i *Lr46* oraz opracowanie warunków multiplex PCR.
- 3° Łukasz Mazur 2019 r.: Postęp w hodowli pszenicy i jego wykorzystanie w polskim rolnictwie.
- 4° Radosław Witkowski 2019 r.: Postęp w hodowli kukurydzy i jego wykorzystanie w polskim rolnictwie.

- 5° Radosław Stanisław Potrawiak 2018 r.: Analiza zastosowania metod biotechnologicznych we współczesnej hodowli roślin.
- 6° Ewelina Maria Staszak 2018 r.: Identyfikacja genu *Pm2* przy wykorzystaniu markera *Xcfd81* u form pszenicy zwyczajnej o różnicowanym pochodzeniu.
- 7° Agnieszka Lisewska 2017 r.: Charakterystyka genów odporności na rdzę brunatną i ich markerów DNA w hodowli pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum ssp. aestivum*).
- 8° Roksana Skowrońska 2017 r.: Identyfikacja genu odporności na rdzę brunatną *Lr19* u odmian półkarłowatych pszenicy ozimej o różnicowanym pochodzeniu.
- 9° Alicja Buda 2017 r.: Identyfikacja genu *Lr19* przy wykorzystaniu markera *Xwmc 221* u form pszenicy zwyczajnej o różnicowanym pochodzeniu.
- 10° Joanna Jaworowicz 2017 r.: Porównanie poziomu plonowania polskich odmian pszenicy ozimej z odmianami zagranicznymi uprawianymi w Polsce.
- 11° Aleksandra Sommerfeld 2016 r.: Znaczenie markerów molekularnych w hodowli odpornościowej pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum ssp. aestivum*).
- 12° Monika Dobierzyńska 2016 r.: Znaczenie markerów molekularnych w hodowli oraz identyfikacja genów półkarłowatości pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum ssp. aestivum*).
- 13° Angelika Olesińska 2015 r.: Analiza markerów molekularnych służących do mapowania i identyfikacji genów odporności na rdzę brunatną u pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum ssp. vulgare*).
- 14° Magdalena Woźniak 2014 r.: Wykorzystanie markerów MAS w hodowli pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum L.*).
- 15° Patrycja Bernat 2014 r.: Wykorzystanie markerów molekularnych do selekcji kłótkosłomych form pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum ss.p vulgare*).
- 16° Magdalena Agnieszka Nowak 2014 r.: Charakterystyka genów półkarłowatości i ich markerów DNA w hodowli pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum ssp. aestivum*).

Recenzowanie prac dyplomowych – inżynierskich:

- 1° Magdalena Roszak 2015 r.: Analiza wartości hodowlanej genotypów kolekcyjnych form pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum L.*) zawierających geny półkarłowatości.
- 2° Błażej Grabarczyk 2015 r.: Ocena struktury plonu genotypów kolekcyjnych form pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum L.*) zawierających geny półkarłowatości.
- 3° Marika Napierała 2015 r.: Ocena wykorzystania metod biotechnologicznych w hodowli odpornościowej pszenicy.
- 4° Łukasz Matuszak 2016 r.: Ocena cech struktury plonu genotypów kolekcyjnych pszenicy ozimej (*Triticum aestivum L.*) odpornych na mączniaka prawdziwego.
- 5° Dominika Golińska 2016 r.: Ocena możliwości wykorzystania genotypów kolekcyjnych pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum L.*) zawierających geny półkarłowatości w warunkach Wielkopolski.
- 6° Robert Czajka 2016 r.: Ocena cech struktury plonu genotypów kolekcyjnych form jarych lnianki siewnej pochodzących z Niemiec.
- 7° Michał Czarnota 2016 r.: Możliwość wykorzystania genotypów kolekcyjnych lnianki jarej w polskiej hodowli.

8° Katarzyna Kociszewska 2016 r.: Projekt zastosowania metod biotechnologicznych w hodowli odpornościowej pszenicy.

9° Beata Cichowlas 2017 r.: Ocena cech struktury plonu genotypów kolekcyjnych form jarych Inianki siewnej pochodzących z Rosji.

Odbyte szkolenia:

1° Szkolenie pt. Profilowanie ekspresji miRNA – MBS szkolenia, konferencje, usługi Sp. z o.o.. 13-15.05.2017 r. Warszawa.

2° Seminarium naukowe poświęcone odwrotnej transkrypcji, technice Real-Time PCR oraz klonowaniu molekularnemu. ABO Sp z o.o. 24.04.2015 r. Poznań.

3° Workshop on – Plant genomics resources and phenotypic data standardisation. Organizowany przez Transplant Consortium w dniach 27 – 28. 06. 2013 r. Poznań

4° Szkolenie pt. Facilitating dialogue between business and academia. Organizowane przez Nickel Technology Park w dniach 15 – 16.05.2013 r. Poznań.

5° Szkolenie pt. Ochrona własności intelektualnych w ramach projektu: Komercjalizacja drogą do sukcesu nr POKL.04.02.00-000010/11. Organizowane w dniach 3 – 5.10.2012 r. Wrocław.

6° Szkolenie pt. Organizmy genetycznie zmodyfikowane – wzmocnienie systemu informacji o środowisku w szczególności z zakresu bezpieczeństwa biologicznego. Usługa szkoleniowa w ramach Transitio Facility 2004/016-829.03.01, Nr ref.: 2004/016-829.03.01.02/P. Projekt współfinansowany przez Unię Europejską i realizowany dla Ministerstwa Środowiska i Centrum Informacji o Środowisku. Organizowane 4.10.2007 r. Poznań.

Wnioskowanie o granty:

1° Temat badawczy proponowany do dotowania przez MRiRW w latach 2014–2020 Badania nad haploidyzacją żyta oraz molekularna diagnostyka zdolności do androgenezy - sierpień 2013r. (niezakwalifikowany do finansowania).

2° Projekt NCBiR w ramach PBS, ścieżka B Udoskonalanie metod selekcji genotypów pszenicy odpornych na choroby podstawy źdźbła w oparciu o markery molekularne – 2016 (niezakwalifikowany do finansowania).

3° Projekt NCN Analiza odpowiedzi transkryptomu na zakażenie mączniakiem prawdziwym u różnych odmian pszenicy zwyczajnej – czerwiec 2017. (niezakwalifikowany do finansowania).

4° Projekt NCN Poszukiwanie matrycy metaboliczno-genetycznej Inianki siewnej odpowiedzialnej za odporność na choroby grzybowe – czerwiec 2017. (niezakwalifikowany do finansowania).

Działalność organizacyjna: w organach uczelni i jej komisjach

1° Członek Rady Wydziału Rolnictwa i Bioinżynierii od 2014 roku.

2° Członek Wydziałowej Komisji ds. Kadr Naukowych od 2017 roku.

3° Członek Zespołu ds. Jakości Kształcenia na kierunku Rolnictwo od 2016 roku.

Prace organizacyjne na rzecz samodzielnych jednostek organizacyjnych UP (Katedra Genetyki i Hodowli Roślin).

1° Członek Rady Katedry Genetyki i Hodowli Roślin od 2015 roku.

2° Sprawowanie nadzoru nad obrotem materiałami ewidencjonowanymi UP w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin.

3° Udział w komisjach przetargowych.

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

Otrzymane nagrody i wyróżnienia:

1° Nagroda zespołowa za osiągnięcia w pracy zawodowej. 2012. Nagroda J M Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

2° Nagroda zespołowa za osiągnięcia w pracy zawodowej. 2011. Nagroda J M Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

3° Nagroda zespołowa za osiągnięcia w pracy zawodowej. 2009. Nagroda J M Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.


4° Nagroda zespołowa za osiągnięcia w pracy zawodowej. 2007. Nagroda J M Rektora Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu.

Mój dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje **48** oryginalnych prac twórczych, **44** streszczenia i postery, **5** referatów konferencyjnych, **1** współautorstwo w monografii oraz **1** w rozdziale monografii.

Na mój opublikowany dorobek naukowy składa się **48** prac współautorskich, z czego w **20** publikacjach jestem autorem wiodącym. Spośród **48** oryginalnych prac twórczych, **28** zostało wydane w języku angielskim, w tym **15** w czasopismach z „Listy Filadelfijskiej”. Łączna suma uzyskanych przeze mnie punktów zgodnie z listą czasopism MNiSW z uwzględnieniem osiągnięcia naukowego wynosi **1159**.

W okresie przed uzyskaniem stopnia doktora na mój dorobek naukowy składały się **3** oryginalne prace twórcze. Znaczne zwiększenie dorobku naukowo-badawczego miało miejsce po uzyskaniu stopnia naukowego doktora.

Sumaryczny impact factor moich publikacji według listy Journal Citation Reports (JCR) wynosi **24,101**.


(podpis wnioskodawcy)