

AUTOREFERAT

dr Bożena Kolano

Katedra Anatomii i Cytologii Roślin

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

Uniwersytet Śląski w Katowicach

Katowice, 2016

1. **Imię i nazwisko:** Bożena Kolano

2. **Wykształcenie, posiadane dyplomy, stopnie naukowe**

- 17.09.2004 Doktor nauk biologicznych, Katedra Anatomii i Cytologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach. Tytuł rozprawy doktorskiej "Analiza genomów wybranych gatunków z rodzaju *Chenopodium*", promotor – prof. dr hab. Jolanta Małuszyńska, recenzenci – prof. dr hab. Maria Olszewska (Uniwersytet Łódzki), prof. dr hab. Zofia Szwejkowska-Kulińska (Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu)
- 2000-2004 Słuchaczka stacjonarnego studium doktoranckiego przy Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach
- 11.07.1996 Magister biologii, Katedra Genetyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach. Tytuł pracy magisterskiej "Analiza genetyczna dwóch karłowych mutantów otrzymanych w kulturach pylnikowych jęczmienia (*Hordeum vulgare*)", promotor - prof. dr hab. Iwona Szarejko
- 1991-1996 Studia magisterskie na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach.

3. **Informacje o dotychczasowym przebiegu pracy zawodowej**

- 2004 - obecnie Adiunkt, Katedra Anatomii i Cytologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach
- 2005-2006 Visiting Research Associate, Department of Horticulture, University of Wisconsin, Madison, USA
- 2000-2004 Asystent, Katedra Anatomii i Cytologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach
- 1996-2000 Pracownik inżynierjno-techniczny, Katedra Anatomii i Cytologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach

4. **Opis osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (dz. U. Nr 65, poz. 595 ze zm.)**

a) **Tytuł osiągnięcia naukowego:**

Ewolucja genomu *Chenopodium* ze szczególnym uwzględnieniem sekwencji powtarzalnych DNA

b) **Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:**

(autorzy^a rok wydania, tytuły publikacji, wydawnictwo, tom, strony, IF^{b,c}, MNiSW^d, Cyt.: WoS/Scopus^e)

^aOświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie poszczególnych publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego znajdują się w Załączniku 5.

^bWartość IF wg JCR dla publikacji opublikowanych przed 2015 rokiem podano zgodnie z rokiem ich opublikowania.

^cDla publikacji opublikowanych w 2015 roku podano IF_{5-letni}

^dPunktację MNiSW dla poszczególnych publikacji podano zgodnie z punktacją określoną w wykazie czasopism naukowych obowiązującym na koniec roku kalendarzowego, w którym ukazała się publikacja.

^eDane z dnia: 12.01.2016 (Liczba cytowań bez autocytacji)

4.1. Kolano B., Gardunia B.W., Michalska M., Bonifacio A., Fairbanks D., Maughan P.J., Coleman C.E., Stevens M.R., Jellen E.N., Maluszynska J. 2011. Chromosomal localization of two novel repetitive sequences isolated from *Chenopodium quinoa* Willd. genome. *Genome* 54: 710-717.

IF₂₀₁₁ 1,653; MNiSW 25 pkt; Cyt.: WoS 9 (4); Scopus 11 (4).

Mój udział procentowy szacuję na 60%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań cytogenetycznych, zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu większości analiz cytogenetycznych, opracowaniu otrzymanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu i ostatecznej redakcji manuskryptu po recenzjach, autor korespondencyjny publikacji.

4.2. Kolano B., Tomczak H., Molewska R., Jellen E.N., Maluszynska J. 2012a. Distribution of 5S and 35S rRNA gene sites in 34 *Chenopodium* species (Amaranthaceae). *Botanical Journal of Linnean Society* 170: 220-231.

IF₂₀₁₂ 2,589; MNiSW 25 pkt; Cyt.: WoS 7 (5); Scopus 8 (6).

Mój udział procentowy szacuję na 70%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu koncepcji badawczej, zaplanowaniu doświadczeń, udziale w pracach eksperymentalnych, analizie i opracowaniu wyników oraz napisaniu i redagowaniu publikacji, autor korespondencyjny publikacji.

4.3. Kolano B., Siwinska D., Gomez Pando L., Szymanowska-Pulka J., Maluszynska J. 2012b. Genome Size Variation in *Chenopodium quinoa* (Chenopodiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 298: 251-255.

IF₂₀₁₂ 1,312; MNiSW 25 pkt; Cyt.: WoS 3 (1); Scopus 3 (1).

Mój udział procentowy szacuję na 70%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu koncepcji badawczej, zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu większości prac eksperymentalnych, analizie i opracowaniu wyników, napisaniu i redagowaniu publikacji, autor korespondencyjny publikacji.

4.4. Kolano B., Bednara E., Weiss-Schneeweiss H. 2013. Isolation and characterization of reverse transcriptase fragments of LTR retrotransposons from the genome of *Chenopodium quinoa* (Amaranthaceae). *Plant Cell Reports* 32: 1575-1588.

IF₂₀₁₃ 2,936; MNIŚW 35 pkt; Cyt.: WoS 1 (1); Scopus 1 (1).

Mój udział procentowy szacuję na 90%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu koncepcji badawczej, zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu większości prac eksperymentalnych, wykonaniu analiz bioinformatycznych, opracowaniu wyników i napisaniu manuskryptu oraz późniejszym redagowaniu publikacji, autor korespondencyjny publikacji.

4.5. Kolano B., Siwinska D., McCann J., Weiss-Schneeweiss H. 2015. The evolution of genome size and rDNA in diploid species of *Chenopodium sensu lato* (Amaranthaceae). *Botanical Journal of Linnean Society* 179: 218-235.

IF_{5-letni} 3,117; MNIŚW 30 pkt; Cyt.: WoS 0, Scopus 0.

Mój udział procentowy szacuję na 80%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu koncepcji badawczej, zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu większości prac eksperymentalnych, wykonaniu większości analiz bioinformatycznych oraz opracowaniu wyników i napisaniu oraz późniejszym redagowaniu publikacji, autor korespondencyjny publikacji.

Impact factor dla publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wg bazy Journal Citation Reports: **11,607**

Punktacja MNIŚW publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego: **140**

Liczba cytowań* publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego: wg bazy Web of Science (WoS) – 20 (11) / wg bazy Scopus – 23 (12).

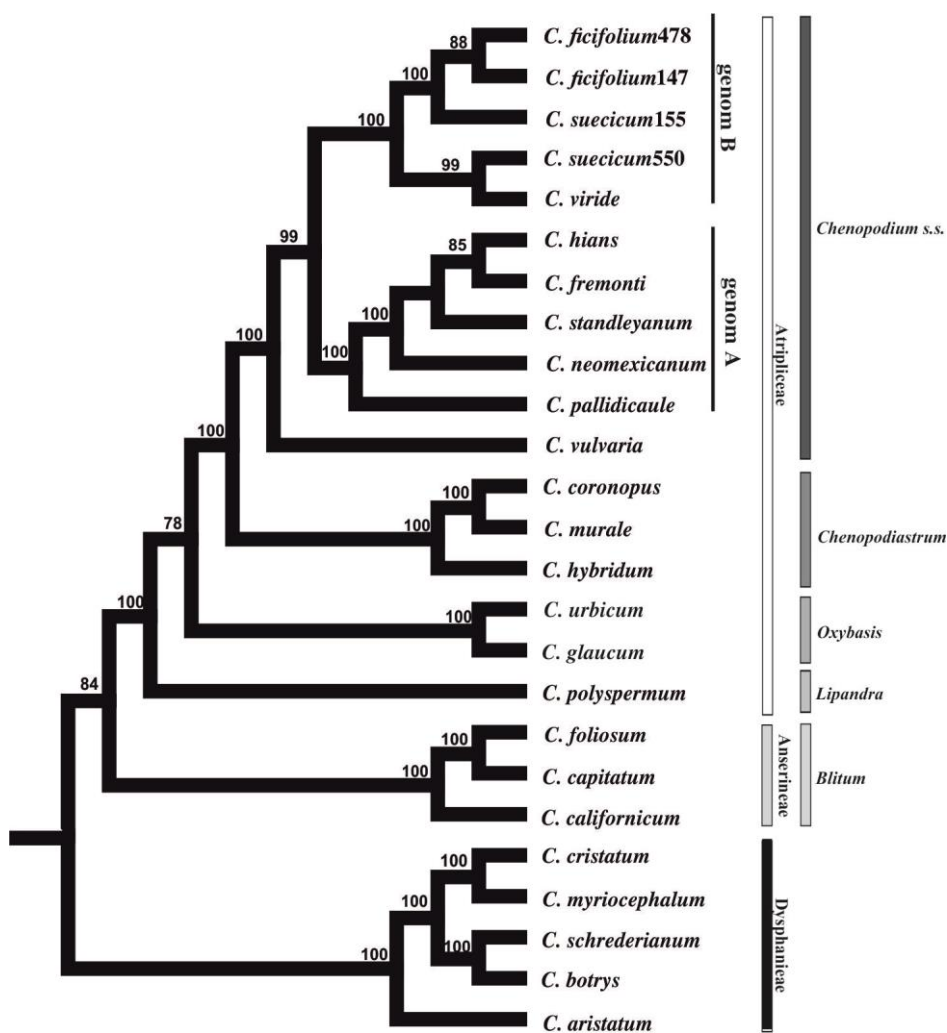
*Dane z dnia: 12.01.2016

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

Chenopodium sensu lato (s.l.) to jeden z największych rodzajów w rodzinie Amaranthaceae, obejmujący głównie jednoroczne rośliny zielne. Wiele gatunków tego rodzaju to kosmopolityczne uciążliwe chwasty (np. *C. album* czy *C. murale*) ale wśród *Chenopodium* znajdują się także cenne rośliny uprawne. Największe znaczenie ekonomiczne ma południowoamerykański gatunek *C. quinoa* (komosa ryżowa), zdobywający ostatnio coraz większą popularność jako alternatywna roślina uprawna. *C. quinoa* pochodzi z andyjskiego rejonu Ameryki Południowej, gdzie w czasach prekolumbijskich była jedną z najważniejszych roślin uprawnych (Jellen i wsp., 2011). Później została wyparta przez europejskie zboża i aż do lat 70-tych zeszłego stulecia uprawiana była jedynie na terenach położonych wysoko w górach (do około 3800 m n.p.m.; Popenoe i wsp., 1989). *C. quinoa* charakteryzuje się nasionami o dużej wartości odżywczej. Na szczególną uwagę zasługuje wysoka zawartość białka, które jako jedno z nielicznych białek roślinnych posiada wszystkie egzogenne aminokwasy w odpowiedniej dla żywienia człowieka proporcji. Dodatkowo jest to

gatunek o niezwyklej tolerancji na niekorzystne warunki środowiska, takie jak zasolenie gleby, susza czy przymrozki (Popenoe i wsp., 1989). Cechy te sprawiły, że komosa ryżowa nie tylko na powrót stała się jedną z najważniejszych roślin uprawnych w andyjskim regionie Ameryki Południowej, ale także została wprowadzona do uprawy w Ameryce Północnej, kilku krajach europejskich, Kenii oraz Indiach (<http://www.fao.org/quinoa-2013/en/>). Wzrost zainteresowania *C. quinoa* jako alternatywną rośliną uprawną przyczynił się do zainicjowania wielu różnych programów badawczych, w których nurt włączają się także prowadzone przeze mnie badania. Prezentowany cykl publikacji jest wynikiem badań, które koncentrowały się wokół zagadnień dotyczących wielkości genomu oraz struktury i ewolucji sekwencji powtarzalnych DNA roślin z rodzaju *Chenopodium s.l.*. Ich celem było lepsze zrozumienie struktury i ewolucji genomów *Chenopodium s.l.*, a także poznanie zależności filogenetycznych pomiędzy gatunkami rodzaju *Chenopodium s.l.*. Wiedza ta może okazać się bardzo przydatna w pracach badawczych i hodowlanych, które zakładają wykorzystanie dzikich gatunków z rodzaju *Chenopodium s.l.*, jako źródła zmienności genetycznej, a także pozwoli przewidywać ewentualne skutki dla miejscowej flory po wprowadzenia upraw *C. quinoa* na nowe tereny.

Historia taksonomiczna *Chenopodium s.l.* jest bardzo skomplikowana i problematyczna. Ostatnie badania z wykorzystaniem metod filogenetyki molekularnej wykazały, że *Chenopodium s.l.* jest rodzajem polifiletycznym, obejmującym organizmy pochodzące od różnych przodków i nie będące ze sobą spokrewnione. Zaproponowano podział taksonu *Chenopodium s.l.* na kilka mniejszych rodzajów, odpowiadającym głównym liniom ewolucyjnym (grupom organizmów wywodzących się od wspólnego przodka). W obrębie *Chenopodium s.l.* wyróżniono co najmniej sześć linii ewolucyjnych: Dysphanieae, Anserineae, *Chenopodiastrum*, *Oxybasia*, *Lipandra* i *Chenopodium sensu stricto* (Ryc. 1; Fuentes-Bazan i wsp., 2012a; Fuentes-Bazan i wsp., 2012b; **Kolano i wsp., 2015**). Analizy filogenetyczne pozwoliły także na dalszy podział diploidalnych gatunków *Chenopodium sensu stricto* (*s.s.*). Wydzielone zostały w tym taksonie dodatkowo trzy linie rozwojowe: gatunki reprezentujące genom A (diploidy z Ameryki Północnej i Południowej), gatunki z genomem B (euroazjatyckie diploidy np. *C. ficifolium*), oraz *C. vulvaria* (Ryc. 1; Walsh i wsp., 2015; **Kolano i wsp., 2015**).



Ryc. 1. Drzewo zależności filogenetycznych otrzymane na podstawie analizy sekwencji plastydowego DNA metodą Maximum Likelihood (ML). Drzewo zostało zakorzenione na podstawie sekwencji wyizolowanych z *Beta vulgaris*. Liczby ponad liniami oznaczają wartość otrzymane podczas szacowania wiarygodności drzewa filogenetycznego (bootstrap support). Po prawej stronie zaznaczono główne linie ewolucyjne wyróżnione zgodnie z danymi Fuentes-Bazan i wsp. (2012b) i **Kolano i wsp. (2015; zmodyfikowane)**.

Genom gatunków z rodzaju *Chenopodium s.l.* jest mało poznany. Stosunkowo najwięcej wiadomo na temat *C. quinoa*, natomiast danych na temat pozostałych gatunków *Chenopodium s.l.* jest niewiele. Jednymi z najważniejszych cech charakteryzujących genom, jest jego wielkość wyrażana w pikogramach lub mega parach zasad (Mpz) oraz liczba chromosomów w kariotypie. Prawie wszystkie gatunki zaliczane do *Chenopodium s.l.* mają taką samą podstawową liczbę chromosomów $x = 9$, a opisane dotychczas gatunki znajdują się na czterech poziomach ploidalności: diploidalnym ($2n = 2x = 18$), tetraploidalnym ($2n = 4x = 36$), heksaploidalnym ($2n = 6x = 54$) i dekaploidalnym ($2n = 10x = 90$). Wyjątkiem są dwa tetraploidalne gatunki z linii ewolucyjnej Dysphanieae o $2n = 4x = 32$ ($x = 8$; Wang i wsp., 1993; Moore, 1981; Krasnikov, 2004; **Kolano i wsp., 2012a**). Kariotypy wszystkich zbadanych dotychczas gatunków *Chenopodium s.l.* zawierają małe, słabo

zróżnicowane morfologicznie chromosomy (w większości meta- lub submetacentryczne), dlatego precyzyjna identyfikacja par chromosomów homologicznych i analiza porównawcza kariotypów *Chenopodium s.l.* wymaga stosowania dodatkowych, względem morfometrycznych, markerów chromosomowych.

Wielkość genomu *Chenopodium s.l.* została dotychczas poznana dla mniej niż połowy gatunków zaliczanych do *Chenopodium s.l.* Są to rośliny o małych genomach, ich wielkość waha się od 0,367 pg/1C DNA (diploidalna *C. schraderianum*) do 2,340 pg/1C DNA (heksaploidalna *C. opulifolium*; Bhargava i wsp., 2007; Kubesova i wsp., 2010; **Kolano i wsp., 2015**). Dostyc duże międzygatunkowe różnice wykazano także dla monoploidalnej wielkości genomu (1C_xDNA), która waha się w granicach od 0,367 pg/1C DNA do 0,913 pg/1C DNA wśród gatunków *Chenopodium s.l.*. Analizy wielkości genomu w kontekście zależności filogenetycznych pozwalają na stawianie hipotez na temat trendów i kierunków ewolucji tej cechy podczas specjacji. Analizy wykonane dla diploidalnych gatunków *Chenopodium s.l.* sugerują, że zmiany wielkości genomu mogły odegrać istotną rolę w specjacji diploidalnych gatunków *Chenopodium s.l.* (**Kolano i wsp., 2015**). Wykazano, że gatunki należące do jednej linii ewolucyjnej najczęściej cechowały się genomem o podobnej wielkości, a ich ewolucji towarzyszył wzrost lub redukcja wielkości genomu. Spośród analizowanych taksonów najmniejszy genom posiadały gatunki należące do linii ewolucyjnej Dysphanieae (0,37-0,45 pg/1C), a największy genom spośród diploidalnych gatunków cechował *C. californicum* (1,36 pg/1C) z linii ewolucyjnej Anserineae. Genom *C. californicum* był wyjątkowo duży jak na tą grupę roślin i znacznie odbiegał od wyników uzyskanych dla innych diploidów *Chenopodium s.l.* (**Kolano i wsp., 2015**). *C. californicum* jest jedynym spośród badanych diploidów gatunkiem wieloletnim. Wszystkie pozostałe badane diploidy są gatunkami jednorocznymi. Zależność między wielkością genomu, a formą życia (jednoroczne *versus* wieloletnie) jest dyskutowana w literaturze od dłuższego czasu. Dostępne dane wskazują, że zielne gatunki wieloletnie mają często większe genomy, niż blisko spokrewnione gatunki jednoroczne na tym samym poziomie ploidalności (Bennett, 1972; Weiss-Schneeweiss i wsp., 2006). Stosunkowo największe zróżnicowanie wielkości genomu, zaobserwowano w linii ewolucyjnej *Chenopodium s.s.* i było ono skorelowane z podziałem tej grupy roślin na trzy linie rozwojowe. Euroazjatyckie diploidy (genom B) posiadały średnio o około 70% większy genom niż amerykańskie gatunki reprezentujące genom A. Najmniejszy genom wśród *Chenopodium s.s.* wyznaczono dla *C. vulvaria*, która tworzy osobną - trzecią linię rozwojową *Chenopodium s.s.* (**Kolano i wsp., 2015**). Na temat ewolucji wielkości genomu poliploidalnych gatunków *Chenopodium* dostępnych jest bardzo

mało danych. Wydaje się, że w tej grupie roślin wielkość genomów poliploidów jest sumą wielkości genomów gatunków ancestralnych, jak wykazano dla heksaploidalnej *C. album* (Mandak i wsp., 2012) oraz dla dwóch tetraploidalnych gatunków *C. quinoa* i *C. berlandieri* (Kolano i wsp., niepubl.).

Wielkość genomu uważana jest za cechę stałą, charakterystyczną dla gatunku, jednak od tej reguły istnieją odstępstwa. Populacje wchodzące w skład jednego gatunku mogą różnić się między sobą wielkością genomu. Polimorfizm wielkości genomu jest opisywany dla coraz większej liczby gatunków np. *Tanacetum vulgare* czy *Arabidopsis thaliana* (Keskitalo i wsp., 1998; Schmutts i wsp., 2004). Prowadzone w ramach prezentowanego osiągnięcia naukowego badania pokazały, że polimorfizm wielkości genomu istnieje także u gatunku *C. quinoa* (Kolano i wsp., 2012b). Porównując wielkość genomu 20 uprawnych populacji lokalnych z Peru, Boliwii, Ekwadoru, Argentyny i Chile wykazano statystycznie istotne różnice w wielkości genomu, sięgające prawie 6%, przy najmniejszej wartości wielkości genomu 1,452 pg/1C, a największej 1,539 pg/1C. Zaobserwowany polimorfizm nie jest duży jeżeli porównamy go z tym obserwowanym dla *Tanacetum vulgare* (27%; Keskitalo i wsp., 1998), ale podobny do zróżnicowania tej cechy, obserwowanego u gatunków o małych genomach np. *Arabidopsis thaliana* (Schmutts i wsp., 2004). Polimorfizm wielkości genomu może być skorelowany z różnymi cechami siedlisk (szerokość, długość geograficzna; wysokość nad poziomem morza itp.; Knight i wsp., 2005). Wśród uprawnych populacji *C. quinoa* wyróżniane są dwie główne pule genowe: i) populacje wyżynne uprawiane powyżej 1800 m n.p.m. oraz ii) populacje nizinne z Chile (Christiansen i wsp., 2007). Analizowane w pracy populacje reprezentowały zarówno typ nizinny, jak i typ górski, jednak nie wykazano korelacji pomiędzy pochodzeniem geograficznym badanej populacji, a wielkością genomu (Kolano i wsp., 2012b). Otrzymane wyniki pozwoliły natomiast stwierdzić, że największym zróżnicowaniem wielkości genomu (4,85%) cechowały się populacje należące do typu górskiego, pochodzące z płaskowyżu Altiplano w rejonie jeziora Titicaca w Boliwii i Peru. Uważa się, że w rejonie tym znajdowało się centrum różnicowania się gatunku, skąd rozprzestrzenił się on na północ i południe (Christiansen i wsp. 2007). Najważniejszymi czynnikami które odpowiadają za polimorfizm wielkości genomu (zarówno międzygatunkowy jak i wewnątrzgatunkowy) jest różny poziom amplifikacji sekwencji powtarzalnych oraz poliploidalność (Wendel, 2000; Hawkins i wsp., 2008). Poliploidalność była też ważnym mechanizmem ewolucji *Chenopodium s.l.* Poliploidalne gatunki występują w każdej linii ewolucyjnej wyróżnionej w *Chenopodium s.l.* (Fuentes-Basan i wsp., 2012a; Kolano i wsp., 2012a). Poliploidalność wydaje się być jedną z przyczyn ponad 6-krotnej

różnicy wielkości genomu obserwowanej wśród gatunków *Chenopodium s.l.* (Bhargava i wsp., 2007; Fuentes-Basan i wsp., 2012a). Poliploidyizacja jest także odpowiedzialna za wewnątrzgatunkowe zróżnicowanie wielkości genomu *C. album s.l.* (od 0,763 pg/1C DNA do 2,473 pg/1C DNA), gatunku obejmującego rośliny o trzech różnych poziomach ploidalności (diploidalne, tetraploidalne i heksaploidalne; Bhargava i wsp., 2007; Kolano i wsp., 2008a). Wszystkie opisywane dotychczas populacje *C. quinoa* były tetraploidalne o $2n = 4x = 36$, nie obserwowano także w kariotypach *C. quinoa* chromosomów B. Wydaje się, że najbardziej prawdopodobnym wyjaśnieniem wewnątrzgatunkowego polimorfizmu wielkości genomu u *C. quinoa* jest, podobnie jak u innych gatunków, różna zawartość sekwencji powtarzalnych w genomach badanych populacji (Smarda i Bures, 2010). Różnice w wielkości genomu, obserwowane wśród diploidalnych gatunków *Chenopodium s.l.*, najprawdopodobniej również wynikają z różnego poziomu amplifikacji sekwencji powtarzalnych.

Genomy roślin okrytonasiennych znacznie różnią się między sobą zawartością sekwencji powtarzalnych DNA. W małych genomach np. *Utricularia gibba* (0,084 pg/1C DNA) sekwencje powtarzalne stanowią jedynie 3% genomu (Ibarra-Laclette i wsp., 2013) natomiast w większych genomach, takich jak np. *Zea mays*, co najmniej 85% to sekwencje powtarzalne (Schnable i wsp., 2009). Na podstawie genomowej organizacji wyróżniono dwie klasy sekwencji powtarzalnych: sekwencje tandemowo powtarzalne (zawierające liczne powtórzenia odcinków o takiej samej, lub bardzo podobnej sekwencji nukleotydów, rozmieszczone jeden za drugim) oraz sekwencje powtarzalne rozproszone tj. rozdzielone przez inne odcinki DNA (Kubis i wsp., 1998). Do pierwszej grupy, sekwencji tandemowo powtarzalnych, zaliczane są: geny rRNA, sekwencje telomerowe oraz bardzo zróżnicowana grupa sekwencji satelitarnych (Hemleben i wsp., 2007; Kubis i wsp., 1998). Do klasy sekwencji powtarzalnych rozproszonych zaliczane są głównie elementy ruchome (retrotranspozony oraz transpozony DNA; Bennetzen i Wang, 2014). Retrotranspozony dzięki replikatywnemu modelowi transpozycji mogą akumulować się w genomach roślinnych w dużej liczbie kopii i stanowić nawet ponad 50% wszystkich sekwencji genomu (Lisch, 2013; Senerchia i wsp., 2013). Uważa się, że to retrotranspozony w większości wypadków są przyczyną dużych różnic w wielkości genomu, nawet u blisko spokrewnionych gatunków na tym samym poziomie ploidalności (Tenailon i wsp., 2011).

Badania prowadzone w ramach prezentowanego osiągnięcia naukowego obejmowały analizę sekwencji retrotranspozonów LTR zarówno Ty1-*copia* jak i Ty3-*gypsy* (Kolano i wsp., 2013). Była to pierwsza analiza tych elementów w genomie *Chenopodium*, która pozwoliła na wgląd w dynamikę procesów amplifikacji/eliminacji retrotranspozonów LTR

w trakcie ewolucji genomu *C. quinoa*. Retrotranspozony są jednym z najważniejszych czynników kształtujących genomy roślinne. Wśród okrytonasiennych, gatunki z małymi genomami zawierają znacznie mniej retrotranspozonów niż gatunki o dużych genomach. *C. quinoa* posiada stosunkowo mały genom, a wśród wyizolowanych klonów sekwencji retrotranspozonów tylko jedna rodziny sekwencji obecna jest w genomie *C. quinoa* w dużej liczbie kopii. Wszystkie pozostałe rodziny retrotranspozonów obecne są w genomie *C. quinoa* w małej liczbie kopii. Chromosomowa lokalizacja retrotranspozonów różni się między gatunkami roślin i typami retrotranspozonów. W genomie *C. quinoa* widoczna jest wyraźna preferencja retrotranspozonów LTR do wstawiania się w rejony przycentromerowe (**Kolano i wsp., 2013**). Taka lokalizacja retrotranspozonów może być z jednej strony związana ze strategią pozwalającą uniknąć negatywnej selekcji spowodowanej tym, że wstawienie w gen powoduje utratę jego funkcji (Gao i wsp., 2008; Du i wsp., 2010; Neumann i wsp., 2011). Z drugiej strony retrotranspozony (głównie Ty3-gypsy) w rejonach centromerowych i przycentromerowych mogą odgrywać ważną rolę w aktywności centromerowej (Neumann i wsp., 2011). Odpowiedź na pytanie czy którykolwiek z analizowanych retrotranspozonów może pełnić rolę w aktywności centromerowej chromosomów *C. quinoa* wymaga dalszych badań. Wiadomo jednak, że w genomie gatunków *Beta* (rodzaj należący do tej samej rodziny Amaranthaceae) retrotranspozony typu Ty3-gypsy są związane z rejonem centromerowym (Neumann i wsp., 2011).

Retrotranspozony LTR to bardzo zróżnicowana grupa sekwencji w genomach roślin (Senerchia i wsp., 2013). Ta klasa elementów ruchomych dzieli się na dwie podklasy: Ty1-copia i Ty3-gypsy, różniące się strukturą drugiej otwartej ramki odczytu (*pol*). W obrębie obydwu podklas wyróżnione zostało po kilka głównych linii ewolucyjnych retrotranspozonów, wspólnych dla wszystkich grup roślin lądowych (Wicker i Keller, 2007; Llorens i wsp., 2009). W podklasie Ty3-gypsy na podstawie analiz filogenetycznych sekwencji odwrotnej transkryptazy wyróżniono linie ewolucyjne: *Del/Tekay*, *Reina*, *Galadriel*, *CRM/CR*, *Athila*, *Tat*. Natomiast w podklasie Ty1-copia wyróżnia się linie ewolucyjne: *Retrofit/Ale*, *Oryco/Ivana*, *Sire/Maximus*, *Tork/Angela*, *Tork/TAR*, *Bianca*. W genomach wszystkich przeanalizowanych dotychczas gatunków roślin, każda z linii ewolucyjnych retrotranspozonów składa się z wielu różnych rodzin sekwencji. Tak duże zróżnicowanie sekwencji retrotranspozonów spowodowane jest przede wszystkim tym, że odwrotna transkryptaza nie ma aktywności korekcyjnej i robi dużo błędów podczas syntezy DNA. Innym źródłem zróżnicowania sekwencji retrotranspozonów jest tranzycja zmetylowanej cytozyny w tyminę, a sekwencje retrotranspozonów są najczęściej silnie

metylowane w genomach roślinnych (Vitte i Bennetzen, 2006). Młode ewolucyjnie rodziny retrotranspozonów cechują się dużym podobieństwem sekwencji i zawierają wiele elementów autonomicznych. Z czasem retrotranspozony akumulują mutacje oraz podlegają fragmentacji poprzez mechanizmy oparte na rekombinacji. Duże zróżnicowanie sekwencji retrotranspozonów w genomie *C. quinoa* sugeruje, że wiele z nich, to pozostałości po stosunkowo dawnej aktywności (Kolano i wsp., 2013). Taką hipotezę potwierdza również bardzo wysoki procent sekwencji o nieprawidłowej ramce odczytu (Vitte i Bennetzen, 2006; Baucom i wsp., 2009).

Analizy filogenetyczne sekwencji retrotranspozonów wyizolowanych z genomu *C. quinoa* pokazały, że poszczególne linie ewolucyjne retrotranspozonów LTR różnią się między sobą modelem ewolucji i podlegały amplifikacji w różnym czasie ewolucji genomu *C. quinoa* (Kolano i wsp., 2013). Większość sekwencji Ty3-gypsy wyizolowanych z genomu *C. quinoa* należała do linii ewolucyjnej *Del/Tekay*. Sekwencje tej linii ewolucyjnej tworzyły liczne niewielkie rodziny o bardzo podobnej sekwencji nukleotydów co odpowiada modelowi ewolucji, w którym mała liczba blisko spokrewnionych sekwencji uległa stosunkowo niedawno amplifikacji w genomie (Baucom i wsp., 2009). Druga z linii ewolucyjnych (*Reina*) wyróżnionych wśród elementów Ty3-gypsy wyizolowanych z *C. quinoa* obejmowała klony, które najprawdopodobniej są pozostałością po amplifikacji w bardziej odległych okresach ewolucji genomu *C. quinoa*. Świadczy o tym mała ilość sekwencji o prawidłowej ramce odczytu i duże zróżnicowaniu sekwencji nukleotydów tych klonów (Kolano i wsp., 2013). Również jedna z linii ewolucyjnej Ty1-copia (*Tork/TAR*) w genomie *C. quinoa* składała się głównie z pozostałości po dawnych wydarzeniach amplifikacji różnych rodzin retrotranspozonów, które z czasem nagromadziły mutacje lub uległy fragmentacji (Kolano i wsp., 2013). Drugą z dominujących w genomie *C. quinoa* linii ewolucyjnych Ty1-copia jest *Retrofit/Ale*. W skład tej linii ewolucyjnej wchodzi duża rodzina bardzo podobnych pod względem sekwencji nukleotydów klonów, wszystkie o prawidłowej ramce odczytu. Sugeruje to, że opisywana rodzina sekwencji to wynik stosunkowo niedawnej, w skali ewolucyjnej, aktywności retrotranspozycyjnej (Kolano i wsp., 2013).

Retrotranspozony z czasem ulegają coraz większym zmianą i fragmentacji, tracąc cechy charakterystyczne dla tej grupy elementów ruchomych. Sekwencje takie mają rozproszoną organizację w genomie podobnie jak elementy ruchome, ale często ich sekwencja nukleotydów nie wykazuje już podobieństwa do żadnego z opisanych elementów ruchomych (Kubis i wsp. 1998). Tego typu sekwencje rozproszone były już wcześniej opisywane dla wielu gatunków roślin (np. *Beta vulgaris*; Menzel i wsp., 2008) w tym również

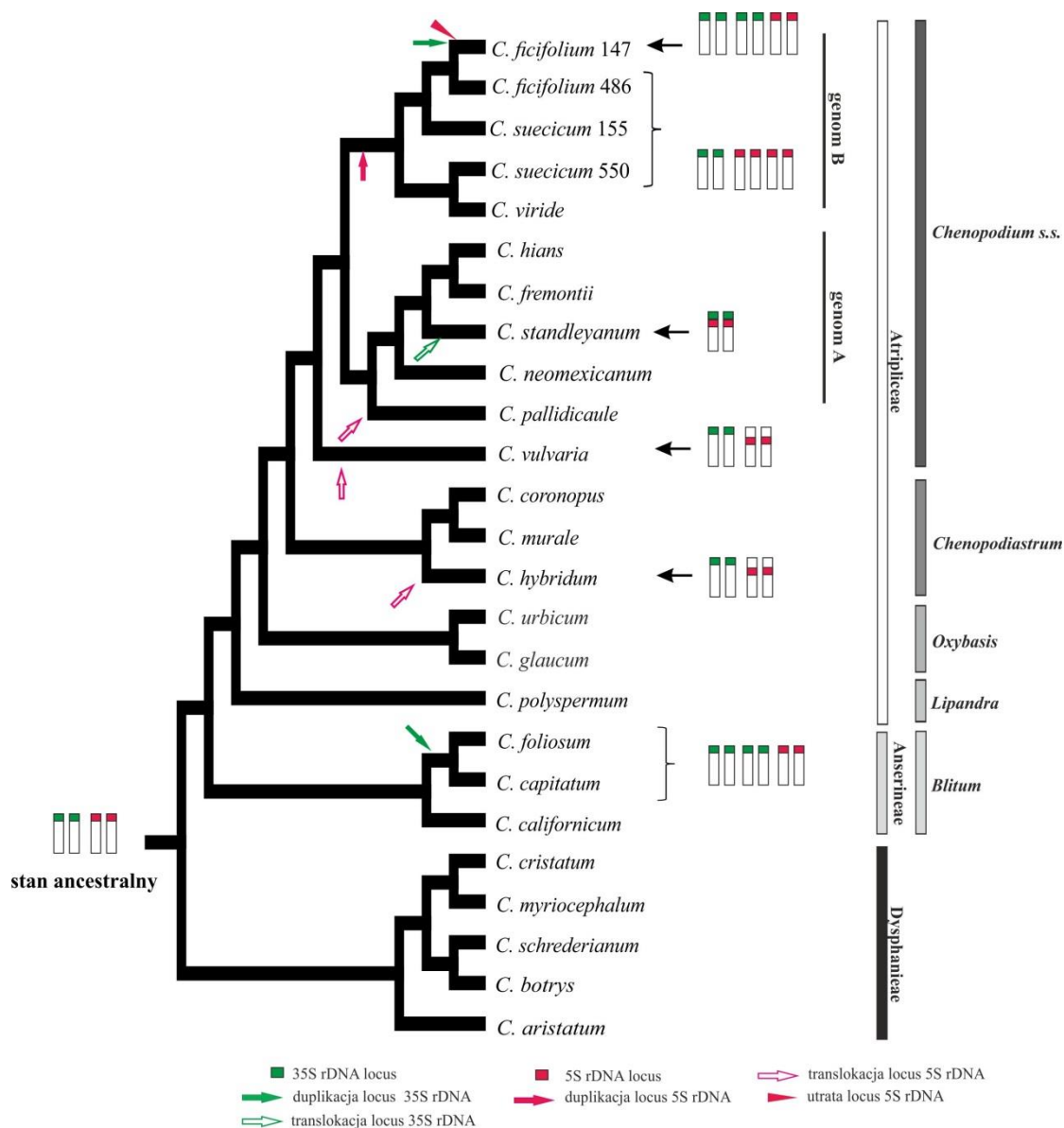
w genomie *C. quinoa* (np. Kolano i wsp., 2008b, **Kolano i wsp., 2011; Kolano i wsp., 2013**). Większość tego typu sekwencji w genomie *C. quinoa* jest rozproszona we wszystkich chromosomach kariotypu (np. Kolano i wsp., 2008b; **Kolano i wsp., 2013**), wyjątkiem jest klon *18-24J*, który ulegał amplifikacji tylko w połowie - 18 chromosomach *C. quinoa*. Sekwencja ta rozproszona jest wzdłuż całych chromosomów, wliczając w to centromery, natomiast nie ma jej w przewężeniu wtórnym (**Kolano i wsp., 2011**). *C. quinoa* jest gatunkiem allotetraploidalnym (Štorchová i wsp., 2015; Walsh i wsp., 2015) i wydaje się, że sekwencja *18-24J* może być sekwencją specyficzną dla jednego z subgenomów rodzicielskich *C. quinoa*. Sekwencja *18-24J* obecna jest także w genomach dwóch innych blisko spokrewnionych poliploidalnych gatunków *C. berlandieri* ($2n = 4x = 36$) i *C. album* ($2n = 6x = 54$). W genomach tych poliploidów *18-24J* uległa amplifikacji w 18 chromosomach (jeden subgenom rodzicielski; **Kolano i wsp., 2011**). Bardzo bliskie pokrewieństwo *C. quinoa* i *C. berlandieri* sugerowane było już wcześniej (Maughan i wsp., 2006), a niedawno opublikowane wyniki badań filogenetycznych potwierdziły, że jeden z subgenomów *C. quinoa*, *C. berlandieri* i *C. album* pochodzi albo od wspólnego przodka, albo od bardzo blisko spokrewnionych gatunków ancestralnych (Walsh i wsp., 2015).

Do drugiej grupy powtarzalnego DNA – sekwencji tandemowo powtarzalnych - należą sekwencje rDNA oraz sekwencje satelitarne. W genomach *Chenopodium s.l.*, stosunkowo dobrze scharakteryzowana jest chromosomowa organizacja loci genów rRNA. Natomiast na temat sekwencji satelitarnych w genomach *Chenopodium s.l.* nadal niewiele wiadomo. Opisano dotychczas tylko jedną sekwencję minisatelitarną *12-13P* (**Kolano i wsp., 2011**), a także scharakteryzowano sekwencje mikrosatelitarne w genomie *C. quinoa* (Manson i wsp. 2005). Klon *12-13P* podobny jest do sekwencji minisatelitarnej *Beta coroliflora* (rośliny z tej samej rodziny Amaranthaceae; Gao et al., 2000). W genomie *C. quinoa* sekwencja *12-13P* zlokalizowana jest głównie w centromerowych i przycentromerowych rejonach chromosomów. Sygnały hybrydyzacyjne *12-13P* obserwowano we wszystkich chromosomach kariotypu, jednak poszczególne chromosomy różniły się znacznie intensywnością sygnałów hybrydyzacyjnych, co wskazuje na duże różnice w liczbie kopii tego klonu pomiędzy poszczególnymi chromosomami. Sekwencja *12-13P* (wraz z homologicznymi powtórzeniami) wydaje się być jednym z najważniejszych składników powtarzalnej frakcji DNA *C. quinoa*, ponieważ wzór sygnałów hybrydyzacyjnych otrzymanych dla *12-13P* był bardzo podobny do sygnałów obserwowanych po genomowej *in situ* hybrydyzacji (GISH) z genomowym DNA *C. quinoa* do chromosomów *C. quinoa*. Sekwencja *12-13P* obecna jest także w genomach dwóch innych poliploidalnych gatunków

Chenopodium, północnoamerykańskiego tetraploida *C. berlandieri* i euroazjatyckiego heksaploida *C. album*. Chromosomowa lokalizacja klonu 12-13P była u tych dwóch gatunków taka sama, jak w genomie *C. quinoa*, jednak intensywność sygnałów hybrydacyjnych była mniejsza, co może wskazywać na mniejszą amplifikację sekwencji 12-13P w genomach tych dwóch gatunków. Obecność sekwencji 12-13P w genomach roślin z Euroazji jak i Ameryki sugeruje, że sekwencja ta może być obecna w genomach większej liczby gatunków *Chenopodium*, szczególnie tych, które należą do grupy *Chenopodium s.s* (Kolano i wsp., 2011).

Najlepiej scharakteryzowanymi w genomach *Chenopodium* sekwencjami powtarzalnymi są geny rRNA. Sekwencje kodujące genów rRNA są bardzo konserwatywne ewolucyjnie. Dzięki temu sekwencje wyizolowane z gatunków modelowych można używać w FISH (fluorescencyjna hybrydacja *in situ*) jako sond DNA, do mapowania loci genów rRNA w chromosomach nawet odległych ewolucyjnie gatunków. Z drugiej strony sekwencje niekodujące genów rRNA ewoluja bardzo szybko i mogą być wykorzystywane jako markery w analizach filogenetycznych. Połączenie analiz cytogenetycznych z danymi z badań filogenetyki molekularnej pozwala na lepsze zrozumienia ewolucji loci genów 35S i 5S rRNA (Kolano i wsp., 2012a; Kolano i wsp. 2015). Badania ewolucji organizacji loci rDNA u diploidalnych gatunków *Chenopodium s.l.* wykazały, że hipotetyczny ancestralny haploidalny zestaw chromosomów *Chenopodium s.l.* posiadał po jednym locus każdego z genów rRNA. Locus 35S rDNA, jak i locus 5S rDNA położone były subterminalnie w dwóch oddzielnych chromosomach. Taki wzór organizacji loci rDNA był również stanem ancestralnym dla wszystkich wyróżnionych w obrębie *Chenopodium s.l.* głównych linii ewolucyjnych (Ryc. 2; Kolano i wsp., 2015). Reorganizacja loci rDNA towarzyszyła specjacji niektórych gatunków *Chenopodium s.l.*. Duplikacja loci 35S rDNA najprawdopodobniej towarzyszyła ewolucji wspólnego przodka dwóch gatunków *C. foliosum* i *C. capitatum* należących do Anserineae (Ryc. 2; Kolano i wsp., 2015). Z kolei w linii ewolucyjnej *Chenopodiastrium* specjacji *C. hybridum* towarzyszyła prawdopodobnie rearanżacja loci 5S rDNA, które z pozycji subterminalnej zostało przeniesione do pozycji interstycjalnej (Ryc. 2; Kolano i wsp., 2015). Najwięcej zmian w organizacji loci rDNA towarzyszyło rozwojowi gatunków z linii ewolucyjnej *Chenopodium s.s.*. W obrębie tej linii ewolucyjnej, podczas specjacji gatunku *C. vulvaria*, miało miejsce przemieszczenie locus 5S rDNA do pozycji interstycjalnej (Ryc. 2; Kolano i wsp., 2015). W ewolucji taksonów reprezentujących genom A podczas specjacji przynajmniej dwóch gatunków nastąpiła reorganizacja loci rDNA. W trakcie specjacji *C. pallidicaule* nastąpiło przeniesienie locus 5S

rDNA z pozycji subterminalnej do pozycji interstycjalnej. Natomiast podczas specjacji *C. standleyanum*, prawdopodobnie subterminalnie położony locus 35S rDNA został przeniesiony do innego chromosomu, charakteryzującego się subterminalnie położonym locus 5S rDNA (Ryc. 2; **Kolano i wsp., 2015**). Ewolucji wspólnego przodka gatunków należących do genomu B towarzyszyła duplikacja loci 5S rDNA (Ryc. 2; **Kolano i wsp., 2015**). Zmiany w liczbie i lokalizacji loci rDNA mogą wynikać z różnych mechanizmów, takich jak rearanżacje chromosomowe (np. inwersje, translokacje) czy transpozycje wraz z elementami ruchomymi (Altinkut i wsp., 2006; Raskina i wsp., 2008; Thomas i wsp., 2001).



Ryc. 2. Organizacja i ewolucja loci rDNA w genomach diploidalnych gatunków *Chenopodium s.l.*. Drzewo zależności filogenetycznych otrzymano na podstawie analizy sekwencji plastydowego DNA metodą Maximum Likelihood (ML). Drzewo zostało zakorzenione na podstawie sekwencji wyizolowanych z *Beta vulgaris*. Na schemacie pokazano liczbę i lokalizację loci rDNA tylko dla gatunków, które cechował układ loci rDNA inny niż stan ancestralny tych cech (**Kolano i wsp., 2015**, zmodyfikowane).

Należy dodać, że małe i słabo zróżnicowane chromosomy *Chenopodium*, oraz brak markerów chromosomowych sprawiają, że wiele zmian lokalizacji rDNA pozostaje niezauważonych (np. przeniesienie locus genu rRNA z pozycji subterminalnej jednego chromosomu do pozycji subterminalnej drugiego chromosomu). Przedstawione dane wskazują, że pomimo wydawałoby się dużego konserwatywności w układzie loci rDNA i podstawowej liczby chromosomów ($x = 9$), specjacji w obrębie przynajmniej niektórych z linii ewolucyjnych gatunków *Chenopodium* (np. *Chenopodium s.s.*, Anserineae) towarzyszyły rearanżacje chromosomowe (**Kolano i wsp., 2012a; Kolano i wsp., 2015**).

Ewolucja sekwencji rDNA jest znacznie słabiej poznana w genomach poliploidalnych gatunków *Chenopodium s.l.* W haploidalnym zestawie chromosomów tych gatunków najczęściej obserwowano jeden lub dwa loci genów 35S rRNA, zawsze w położeniu subterminalnym. Natomiast geny 5S rRNA u tetraploidów zlokalizowane były w dwóch lub trzech loci, a u heksaploidów obserwowano od trzech do czterech loci. Podobnie jak w przypadku diploidów, najczęściej obserwowano loci 5S rDNA położone w pozycji subterminalnej z wyjątkiem *C. quinoa* (*Chenopodium s.s.*) i *C. rubrum* (*Chenopodiaceae*), gdzie odpowiednio jeden lub dwa loci 5S rDNA położone były w pozycji interstycjalnej. Nie znamy wprawdzie pochodzenia większości analizowanych poliploidów, jednak porównanie danych dla diploidów i poliploidów pozwala stwierdzić, że przynajmniej niektóre poliploidy z rodzaju *Chenopodium* (e.g. *C. auricomum*, *C. opulifolium*) utraciły w trakcie ewolucji część loci genów rRNA. Eliminację przynajmniej części loci rDNA z genomów wybranych poliploidów z linii ewolucyjnej *Chenopodium s.s.* potwierdza FISH, w której jako sondy DNA wykorzystano sekwencje *18-24J* (klonu specyficznego dla jednego ancestralnego subgenomu), 35S rDNA i 5S rDNA. Analizą objęto dwa blisko spokrewnione gatunki allotetraploidalne *C. quinoa* i *C. berlandieri* oraz alloheksaploidalny *C. album*. Wykazano, że locus 35S rDNA w genomie *C. berlandieri* i *C. quinoa* położony jest w chromosomach, na których obserwujemy sygnały hybrydazyjnej sekwencji *18-24J* (**Kolano et al. 2011**). Natomiast w genomie *C. album*, posiadającym dwa loci 35S rDNA, jeden z nich położony jest w chromosomach, które wykazują sygnał hybrydazyjny sekwencji *18-24J*. W przypadku loci genów 5S rRNA, u wszystkich analizowanych poliploidów, co najmniej połowa loci położona była w chromosomach, które charakteryzują się intensywnym sygnałem hybrydazyjnym sekwencji *18-24J*. Wyniki te sugerują, że podczas ewolucji wszystkich trzech gatunków nastąpiła eliminacja przynajmniej jednej pary loci genów 35S rRNA i zawsze w genomach badanych poliploidów pozostał locus z subgenomu, dla którego charakterystyczna jest amplifikacja *18-24J* (**Kolano i wsp., 2011**). Preferencyjna utrata

sekwencji rDNA tylko z jednego subgenomu rodzicielskiego została wcześniej opisana dla innych gatunków roślin np. *Iris versicolor* (Lim i wsp., 2007). Reorganizacja loci 35S rDNA wydaje się być jednym z mechanizmów diploidyzacji poliploidalnych genomów. Dlaczego preferencyjnie eliminowane są jedynie loci rDNA pochodzące z jednego subgenomu, nie jest do końca wyjaśnione. Ma to prawdopodobnie związek ze zjawiskiem dominacji jąderkowej, jak na przykładzie gatunków *Nicotiana*, wykazał Kovarik i wsp. (2008). Rearanzacja loci rDNA w genomach polploidów obserwowana jako utrata/nabycie locus, zmiana lokalizacji loci rDNA lub homogenizacja sekwencji rDNA wydają się być częścią procesu diploidyzacji i stosunkowo często opisywane są dla innych rodzajów okrytonasiennych (Pontes i wsp., 2004; Lim i wsp., 2007; Kovarik i wsp., 2008; Weiss-Schneeweiss i wsp., 2008; Weiss-Schneeweiss i wsp., 2012).

W przypadku wielu gatunków loci rDNA są dobrymi markerami, pozwalającymi śledzić procesy mikroewolucji u roślin (Raskina et al., 2008). Wewnątrzgatunkowy polimorfizm liczby loci rDNA wykazano dla kilku gatunków *Chenopodium s.l.*. Dotyczył on obydwu typów genów rRNA u *C. berlandieri* i *C. ficifolium* lub tylko loci 35S rDNA w genomie *C. capitatum* i *C. rubrum* (Maughan i wsp., 2006; **Kolano i wsp., 2012a; Kolano i wsp., 2015**). Inny sposób wewnątrzgatunkowego zróżnicowania organizacji loci 35S rDNA zaobserwowano dla *C. album* (**Kolano i wsp., 2012a**). W zależności od badanej populacji obserwowano albo dwie pary sygnałów hybrydizacyjnych o takiej samej intensywności (podobna liczba powtórzeń kopii genu w locus) albo dwie pary loci rDNA różniące się między sobą intensywnością sygnałów hybrydizacyjnych (duża różnica w liczbie powtórzeń kopii genu w locus). Sekwencje kodujące rRNA są jednymi z najbardziej konserwatywnych sekwencji w eukariotycznych genomach, ale ten ewolucyjny konserwatyzm sekwencji nukleotydów może być źródłem genetycznej niestabilności. Loci rDNA (szczególnie te położone subterminalnie) mogą być przedmiotem nierównomiernych rekombinacji oraz rekombinacji nieuprawnionej (pomiędzy loci leżącymi w chromosomach niehomologicznych). Innym mechanizmem, odpowiedzialnym za wewnątrzgatunkowy polimorfizm loci rDNA, jest transpozycja razem z elementami ruchomymi (Raskina et al., 2008; Thomas et al., 2001).

W większości genomów eukariotycznych liczba kopii genów 35S rRNA znacznie przekracza zapotrzebowanie komórki na rybosomalne rRNA. Tylko niewielka część kopii jest transkrybowana, pozostała część ulega heterochromatynizacji (Carmo-Fonseca et al., 2000). Poszczególne loci genów 35S rRNA mogą albo całkowicie ulegać heterochromatynizacji, albo aktywna transkrypcyjnie jest tylko część sekwencji 35S rDNA w locus. Analizę

aktywności transkrypcyjnej loci 35S rDNA przeprowadzono także dla gatunków *Chenopodium* (Kolano i wsp., 2012a). Tylko kilka diploidalnych gatunków *Chenopodium* posiadało dwie pary loci 35S rDNA. Druga para loci była w większości wypadków nieaktywna transkrypcyjnie. Sytuację odwrotną obserwowano w przypadku poliploidów. U większości gatunków, które posiadały dwa loci, obydwa zawierały transkrypcyjnie aktywne kopie genu 35S rRNA. Ciekawe zjawisko zaobserwowano u *C. bonus henricus*. Dwie analizowane populacje tego gatunku różniły się między sobą liczbą aktywnych transkrypcyjnie loci 35S rDNA. U formy uprawnej obydwa loci były aktywne, u formy dzikiej tylko jeden locus był aktywny transkrypcyjnie. Za wyciszenie aktywności genów 35S rRNA odpowiedzialne są mechanizmy epigenetyczne, np. metylacja DNA i potranslacyjne modyfikacja histonów, które mogą się różnić pomiędzy populacjami tego samego gatunku (Matyasek i wsp., 2007).

Podsumowując, na podstawie uzyskanych wyników można sformułować następujące wnioski:

1. Wielkość genomu jądrowego ma prawdopodobnie wartość adaptacyjną w *Chenopodium s.l.*, ponieważ ewolucji głównych linii ewolucyjnych diploidalnych gatunków *Chenopodium s.l.* towarzyszyły zmiany wielkości genomu, a gatunki należące do jednej linii ewolucyjnej najczęściej mają podobną wielkość genomu.
2. Hipotetyczny kariotyp ancestralny dla diploidalnych gatunków *Chenopodium s.l.* to $2n = 18$ chromosomów z jedną parą loci 35S rDNA i jedną parą loci 5S rDNA położonymi subterminalnie w oddzielnych chromosomach. Ancestralny układ loci nadal dominuje u współczesnych *Chenopodium*, jednak podczas ewolucji kilku gatunków *Chenopodium s.l.* loci genów rRNA uległy reorganizacji obejmującej takie zmiany, jak duplikacja liczby loci lub przeniesienie locus z pozycji subterminalnej do położenia interstycjalnego.
3. U niektórych gatunków *Chenopodium s.l.* występuje wewnątrzgatunkowy polimorfizm w organizacji loci rDNA.
4. Część loci 35S rDNA ulega eliminacji podczas ewolucji trzech poliploidalnych gatunków: *C. quinoa*, *C. berlandieri* i *C. album*.
5. U gatunku *C. quinoa* występuje polimorfizm wielkości genomu. Największe zróżnicowanie wielkości genomu charakteryzuje populacje lokalne z płaskowyżu na granicy Peru i Boliwii, rejonu uważanego za miejsce różnicowania się tego gatunku.
6. Sekwencje konserwatywnej domeny odwrotnej transkryptazy retrotranspozonów z LTR są bardzo zróżnicowaną grupą sekwencji w genomie *C. quinoa*. Większość

wyizolowanych klonów retrotranspozonów występuje w genomie *C. quinoa* w małej liczbie kopii. W chromosomach *C. quinoa*, retrotranspozony najczęściej są zlokalizowane w rejonach przycentromerowych.

7. W rejonach centromerowych i przycentromerowych wszystkich chromosomów *C. quinoa* oraz dwóch gatunków blisko spokrewnionych występuje sekwencja *12-13P*. Sekwencja ta wydaje się należeć do frakcji najbardziej powtarzalnego DNA w genomie *C. quinoa*.
8. Klon 18-24J jest sekwencją rozproszoną w genomie *Chenopodium*, która uległa amplifikacji tylko w jednym z subgenomów rodzicielskich tetraploidalnych *C. quinoa* i *C. berlandieri* jak i heksaploidalnego *C. album*. Obserwowana organizacja sekwencji *18-24J* w chromosomach potwierdza allopoliploidalne pochodzenie omawianych gatunków.

Piśmiennictwo

- Altinkut, A., Raskina, O., Nevo, E., Belyayev, A., 2006. En/spm-like transposons in Poaceae species: transposase sequence variability and chromosomal distribution. *Cellular & Molecular Biology Letters* 11, 214-229.
- Baucom, R.S., Estill, J.C., Chaparro, C., Upshaw, N., Jogi, A., Deragon, J.M., Westerman, R.P., SanMiguel, P.J., Bennetzen, J.L., 2009. Exceptional diversity, non-random distribution, and rapid evolution of retroelements in the B73 maize genome. *Plos Genetics* 5: e1000732.
- Bennett, M.D., 1972. Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. *Proceedings of the Royal Society series B* 181: 109-135.
- Bennetzen, J.L., Wang, H., 2014. The contributions of transposable elements to the structure, function, and evolution of plant genomes. *Annual Review of Plant Biology* 65: 505-530.
- Bhargava, A., Shukla, S., Ohri, D., 2007. Genome size variation in some cultivated and wild species of *Chenopodium* (Chenopodiaceae). *Caryologia* 60: 245-250.
- Carmo-Fonseca, M., Mendes-Soares, L., Campos, I. 2000. To be or not to be in the nucleolus. *Nature Cell Biology* 2, E107-E112.
- Christensen, S.A., Pratt, D.B., Pratt, C., Nelson, P.T., Stevens, M.R., Jellen, E.N., Coleman, C.E., Fairbanks, D.J., Bonifacio, A., Maughan, P.J. 2007. Assessment of genetic diversity in the USDA and CIP-FAO international nursery collections of quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) using microsatellite markers. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 5: 82-95.
- Du, J.C., Tian, Z.X., Hans, C.S., Laten, H.M., Cannon, S.B., Jackson, S.A., Shoemaker, R.C., Ma, J.X. 2010. Evolutionary conservation, diversity and specificity of LTR-retrotransposons in flowering plants: insights from genome-wide analysis and multi-specific comparison. *Plant Journal* 63: 584-598.
- Fuentes-Bazan, S., Mansion, G., Borsch, T., 2012a. Towards a species level tree of the globally diverse genus *Chenopodium* (Chenopodiaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62: 359-374.
- Fuentes-Bazan, S., Uotila, P., Borsch, T., 2012b. A novel phylogeny-based generic classification for *Chenopodium sensu lato*, and a tribal rearrangement of Chenopodioideae (Chenopodiaceae). *Willdenowia* 42: 5-24.
- Gao, D., Schmidt, T., Jung, C., 2000. Molecular characterization and chromosomal distribution of species-specific repetitive DNA sequences from *Beta corolliflora*, a wild relative of sugar beet. *Genome* 43: 1073-1080.

- Gao, X., Hou, Y., Ebina, H., Levin, H.L., Voytas, D.F., 2008. Chromodomains direct integration of retrotransposons to heterochromatin. *Genome Research* 18: 359-369.
- Hawkins, J.S., Grover, C.E., Wendel, J.F., 2008. Repeated big bangs and the expanding universe: Directionality in plant genome size evolution. *Plant Science* 174: 557-562.
- Hemleben, V., Kovarik, A., Torres-Ruiz, R.A., Volkov, R.A., Beridze, T., 2007. Plant highly repeated satellite DNA: molecular evolution, distribution and use for identification of hybrids. *Systematics and Biodiversity* 5, 277-289.
- Ibarra-Laclette, E., Lyons, E., Hernandez-Guzman, G., Perez-Torres, C.A., Carretero-Paulet, L., Chang, T.H., 2013. Architecture and evolution of a minute plant genome. *Nature* 498, 94-98.
- Jellen, E., Kolano, B., Sederberg, M., Bonifacio, A., Maughan, P. 2011. *Chenopodium*. In: Kole, C. (Ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Springer Verlag, Berlin Heidelberg pp. 34-62.
- Keskitalo, M., Linden, A., Valkonen, J.P.T., 1998. Genetic and morphological diversity of Finnish tansy (*Tanacetum vulgare* L., Asteraceae). *Theoretical and Applied Genetics* 9: 1141-1150.
- Knight, C.A., Molinari, N.A., Petrov, D.A., 2005. The large genome constraint hypothesis: Evolution, ecology and phenotype. *Annals of Botany* 95, 177-190.
- Kolano, B., Bednara, E., Weiss-Schneeweiss, H., 2013. Isolation and characterization of reverse transcriptase fragments of LTR retrotransposons from the genome of *Chenopodium quinoa* (Amaranthaceae). *Plant Cell Reports* 32: 1575-1588.
- Kolano, B., Gardunia, B.W., Michalska, M., Bonifacio, A., Fairbanks, D., Maughan, P.J., Coleman, C.E., Stevens, M.R., Jellen, E.N., Maluszynska, J., 2011. Chromosomal localization of two novel repetitive sequences isolated from *Chenopodium quinoa* genome. *Genome* 54: 710-717.
- Kolano, B., Plucienniczak, A., Kwasniewski, M., Maluszynska, J., 2008b. Chromosomal localization of a novel repetitive sequence in the *Chenopodium quinoa* genome. *Journal of Applied Genetics* 49: 313-320.
- Kolano, B., Siwinska, D., Maluszynska, J., 2008a. Comparative cytogenetic analysis of diploid and hexaploid *Chenopodium album* agg. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 77 (4) 293-298.
- Kolano, B., Siwinska, D., McCann, J., Weiss-Schneeweiss, H., 2015. The evolution of genome size and rDNA in diploid species of *Chenopodium sensu lato* (Amaranthaceae). *Botanical Journal of Linnean Society* 179: 218-235.
- Kolano, B., Siwinska, D., Gomez Pando, L., Szymanowska- Pulka, J., Maluszynska, J., 2012b. Genome Size Variation in *Chenopodium quinoa* (Chenopodiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 298: 251-255.
- Kolano, B., Tomczak, H., Molewska, R., Jellen, E.N., Maluszynska, J., 2012a. Distribution of 5S and 35S rRNA gene sites in 34 *Chenopodium* species (Amaranthaceae). *Botanical Journal of Linnean Society* 170, pp. 220-231.
- Kovarik, A., Dadejova, M., Lim, Y.K., Chase, M.W., Clarkson, J.J., Knapp, S., Leitch, A.R., 2008. Evolution of rDNA in *Nicotiana* allopolyploids: a potential link between rDNA homogenization and epigenetics. *Annals of Botany* 101: 815-823.
- Krasnikov, 2004. Karyological study of the Tuva Republic flora: a summary. *Turczaninowia* 7: 82-95.
- Kubesova, M., Moravcova, L., Suda, J., Jarosik, V., Pysek, P., 2010. Naturalized plants have smaller genomes than their non-invading relatives: a flow cytometric analysis of the Czech alien flora. *Preslia* 82: 81-96.
- Kubis, S., Schmidt, T., Heslop-Harrison, J.S., 1998. Repetitive DNA elements as a major component of plant genomes. *Annals of Botany* 82: 45-55.
- Lim, K.Y., Matyasek, R., Kovarik, A., Leitch, A., 2007. Parental origin and genome evolution in the allopolyploid *Iris versicolor*. *Annals of Botany* 100: 219-224.
- Lisch, D., 2013. How important are transposons for plant evolution? *Nature Reviews Genetics* 14: 49-61.
- Llorens, C., Muñoz-Pomer, A., Bernad, L., Botella, H., Moya, A., 2009. Network dynamics of eukaryotic LTR retroelements beyond phylogenetic trees. *Biology Direct* 4:41.
- Mandak, B., Travnicek, P., Pastova, L., Korinkova, D., 2012. Is hybridization involved in the evolution of the *Chenopodium album* aggregate? An analysis based on chromosome counts and genome size estimation. *Flora* 207: 530-540.

- Mason, S. L., Stevens, M.R., Jellen, E.N., Bonifacio, A., Fairbanks, D.J., Coleman, C.E., McCarty, R.R., Rasmussen, A.G., Maughan, P.J., 2005. Development and Use of Microsatellite Markers for Germplasm Characterization in Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Crop Science* 45: 1618-1630.
- Matyasek, R., Tate, J.A., Lim, Y.K., Srubarova, H., Koh, J., Leitch, A.R., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Kovarik, A., 2007. Concerted evolution of rDNA in recently formed Tragopogon allotetraploids is typically associated with an inverse correlation between gene copy number and expression. *Genetics* 176: 2509-2519.
- Maughan, P.J., Kolano, B.A., Maluszynska, J., Coles, N.D., Bonifacio, A., Rojas, J., Coleman, C.E., Stevens, M.R., Fairbanks, D.J., Parkinson, S.E., Hellen, E.N., 2006. Molecular and cytological characterization of ribosomal RNA genes in *Chenopodium quinoa* and *Chenopodium berlandieri*. *Genome* 49: 825-839.
- Menzel, G., Dechyeva, D., Wenke, T., Holtgrawe, D., Weisshaar, B., Schmidt, T., 2008. Diversity of a complex centromeric satellite and molecular characterization of dispersed sequence families in sugar beet (*Beta vulgaris*). *Annals of Botany* 102: 521-530.
- Moore, D.M., 1981. Chromosome numbers of Fuegian angiosperms. *Boletim da Sociedade Broteriana* 211, 995-1012.
- Neumann, P., Navratilova, A., Koblizkova, A., Kejnovsky, E., Hribova, E., Hobza, R., Widmer, A., Dolezel, J., Macas, J., 2011. Plant centromeric retrotransposons: a structural and cytogenetic perspective. *Mobile DNA* 2: 4.
- Pontes, O., Neves, N., Silva, M., Lewis, M.S., Madlung, A., Comai, L., Viegas, W., Pikaard, C.S., 2004. Chromosomal locus rearrangements are a rapid response to formation of the allotetraploid *Arabidopsis suecica* genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 18240-18245.
- Popenoe, H., King, S., Kalinowski, L., 1989. Lost crops of the Incas. Little-known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. National Academy Press, Washington, pp. 139-161.
- Raskina, O., Barber, J.C., Nevo, E., Belyayev, A., 2008. Repetitive DNA and chromosomal rearrangements: speciation-related events in plant genomes. *Cytogenetics and Genome Research* 120: 351-357.
- Schmuths, H., Meister, A., Horres, R., Bachmann, K., 2004. Genome size variation among accessions of *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany* 93: 317-321.
- Schnable, P.S., Ware, D., Fulton, R.S., Stein, J.C., Wei, F.S., Pasternak et al., 2009. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science* 326: 1112-1115.
- Senerchia, N., Wicker, T., Felber, F., Parisod, C., 2013. Evolutionary dynamics of retrotransposons assessed by high-throughput sequencing in wild relatives of wheat. *Genome Biology and Evolution* 5: 1010-1020.
- Smarda, P., Bures, P. 2010. Understanding intraspecific variation in genome size in plants. *Preslia* 82, 41-61.
- Štorchová, H., Drabešová, J., Cháb, D., Kolář, J., Jellen, E., 2015. The introns in FLOWERING LOCUS T-LIKE (FTL) genes are useful markers for tracking paternity in tetraploid *Chenopodium quinoa* Willd. *Genetic Resources and Crop Evolution* 62: 913-925.
- Tenaillon, M.I., Hufford, M.B., Gaut, B.S., Ross-Ibarra, J., 2011. Genome size and transposable element content as determined by high-throughput sequencing in maize and *Zea luxurians*. *Genome Biology and Evolution* 3: 219-229.
- Thomas, H.M., Harper, J.A., Morgan, W.G., 2001. Gross chromosome rearrangements are occurring in an accession of the grass *Lolium rigidum*. *Chromosome Research* 9: 585-590.
- Vitte, C., Bennetzen, J.L., 2006. Analysis of retrotransposon structural diversity uncovers properties and propensities in angiosperm genome evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 17638-17643.
- Walsh, B.M., Adhikary, D., Maughan, P.J., Emshwiller, E., Jellen, E.N., 2015. *Chenopodium* Polyploidy Inferences from Salt Overly Sensitive 1 (SOS1) Data. *American Journal of Botany* 102: 533-543.
- Wang, S., Tsuchiya, T., H.D., W., 1993. Chromosome studies in several species of *Chenopodium* from North and South America. *Journal of Genetics and Breeding* 47: 163-170.

- Weiss-Schneeweiss, H., Bloch, C., Turner, B., Villasenor, J.L., Stuessy, T.F., Schneeweiss, G.M., 2012. The promiscuous and the chaste: frequent allopolyploid speciation and its genomic consequences in american daisies (*Melampodium* sect. *Melampodium*; Asteraceae). *Evolution* 66: 211-228.
- Weiss-Schneeweiss, H., Greilhuber, J., Schneeweiss, G.M., 2006. Genome size evolution in holoparasitic *Orobanche* (Orobanchaceae) and related genera. *American Journal of Botany* 93: 148-156.
- Weiss-Schneeweiss, H., Tremetsberger, K., Schneeweiss, G.M., Parker, J.S., Stuessy, T.F., 2008. Karyotype diversification and evolution in diploid and polyploid South American *Hypochoeris* (Asteraceae) inferred from rDNA localization and genetic fingerprint data. *Annals of Botany* 101: 909-918.
- Wendel, J.F., 2000. Genome evolution in polyploids. *Plant Molecular Biology* 42: 225-249.
- Wicker, T., Keller, B., 2007. Genome-wide comparative analysis of copia retrotransposons in Triticeae, rice, and Arabidopsis reveals conserved ancient evolutionary lineages and distinct dynamics of individual copia families. *Genome Research* 17: 1072-1081.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo badawczych

Pierwsze badania naukowe realizowałam w ramach pracy magisterskiej pod tytułem „Analiza genetyczna dwóch karłowych mutantów otrzymanych w kulturach pylnikowych jęczmienia (*Hordeum vulgare*)” pod kierunkiem prof. dr hab. Iwony Szarejko w Katedrze Genetyki Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. Po uzyskaniu stopnia magistra zostałam zatrudniona na okres 4 lat na etacie inżynierjno-technicznym na stanowisku biologa w Katedrze Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. W tym okresie miałam okazję zapoznać się z różnymi technikami cytogenetycznymi, które później wykorzystałam w trakcie studiów doktoranckich. W tym czasie rozpoczęłam, we współpracy z dr Luz Gomez Pando (Universidad Nacional Agraria de La Molina, Peru), badania mające na celu analizę kariotypów *Chenopodium quinoa* oraz *Amaranthus caudatus* - roślin tradycyjnie uprawianych w andyjskim rejonie Ameryki Południowej. Te dwa gatunki, począwszy od lat 70-tych zeszłego wieku, zaczęły zdobywać coraz większą popularność jako alternatywne rośliny uprawne. Wzrost zainteresowania uprawą tych gatunków w rodzimym zasięgu oraz w krajach Ameryki Północnej, Europy i Indiach przyczynił się do zainicjowania wielu różnych programów badawczych, których celem jest wyprowadzanie wartościowych odmian uprawnych. W związku z tym pojawiła się potrzeba poznania struktury genomu tych gatunków. Rozpoczęty przeze mnie badania, których celem była charakterystyka kariotypu, włączyły się w ten nurt. Zarówno *C. quinoa* jak i *A. caudatus* to gatunki o małych, licznych i trudnych do analizy chromosomach. W badaniach kariologicznych takich gatunków konieczne jest stosowanie markerów chromosomowych, które pozwalają identyfikować pary chromosomów homologicznych oraz umożliwiają prowadzenie badań porównawczych. Jednym z najlepszych i najszerzej

stosowanych markerów chromosomowych są sekwencje rDNA, dlatego pierwszym celem moich badania było określenie liczby, lokalizacji oraz aktywności transkrypcyjnej loci 35S rDNA. Do charakterystyki kariotypów tych gatunków wykorzystano także metody prążkowe, np. srebrzenie organizatorów jąderkowych. Wyniki prowadzonych analiz opublikowane zostały w *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* (Kolano i wsp., 2001) oraz były prezentowane jako poster na 52 Zjeździe Polskiego Towarzystwa Botanicznego.

W październiku 2000 roku rozpoczęłam studia doktoranckie na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. Równocześnie zostałam zatrudniona w Katedrze Anatomii i Cytologii Roślin na ½ etatu asystenta. W trakcie studiów doktoranckich prowadziłam badania, których celem była porównawcza analiza genomów siedmiu genotypów należących do trzech gatunków *Chenopodium*. Dwa z badanych gatunków, *C. quinoa* i *C. berlandieri* obejmują zarówno formy uprawne, jak i dziko rosnące i pochodzą odpowiednio z Ameryki Południowej i Ameryki Północnej. Trzecim z analizowanych gatunków była komosa biała (*C. album s.l.*) dobrze znany gatunek kosmopolitycznego chwastu. Wszystkie analizowane gatunki *Chenopodium* posiadają liczne, małe i morfologicznie słabo zróżnicowane chromosomy. Wszystkie badane genotypy mają taką samą podstawową liczbę chromosomów $x = 9$, ale różnią się poziomem ploidalności. *C. quinoa* i *C. berlandieri* są tetraploidami, natomiast trzeci z badanych taksonów *C. album s.l.* obejmuje genotypy na trzech poziomach ploidalności: diploidalnej, tetraploidalnej i heksaploidalnej. Wszystkie badane genotypy cechują się małym genomem i są roślinami polisomatycznymi. Porównanie wzorów endopoliploidalności roślin diploidalnych, tetraploidalnych i heksaploidalnych wykazało, że dynamika tych przemian zależy od stopnia ploidalności roślin *Chenopodium*.

Do analizy kariotypów wybranych gatunków *Chenopodium* wykorzystano fluorescencyjną hybrydyzację *in situ* (FISH) stosując, jako sondy DNA, różnego typu sekwencje powtarzalne. Ustalono, że sekwencje 35S i 5S rDNA występują w genomach badanych gatunków w małej liczbie loci, które najczęściej położone są subterminalnie w chromosomach. Wyjątkiem jest *C. quinoa*, w którego kariotypie jedna z par loci 5S rDNA usytuowana jest interstycjalnie. Wykazano także, że wszystkie badane gatunki posiadają sekwencje telomerowe typu *Arabidopsis*. Zastosowanie uniwersalnych markerów chromosomowych pozwoliło na identyfikację niewielu par chromosomów homologicznych, dlatego podjęto próbę identyfikacji i charakteryzacji sekwencji powtarzanych specyficznych dla genomów *Chenopodium*, które następnie mogłyby służyć jako markery chromosomowe. Sekwencje powtarzalne są także dobrym narzędziem do badań zależności filogenetycznych.

Scharakteryzowano pięć nowych sekwencji powtarzalnych z genomu *C. quinoa*, z których większość wykazywała pewne podobieństwo do elementów ruchomych. Wszystkie nowe sekwencje powtarzalne cechowały się rozproszoną organizacją w genomie, a ich sygnały hybrydazyjne obserwowane były we wszystkich chromosomach kariotypu *C. quinoa*. Porównawcze analizy organizacji tych sekwencji w genomach badanych gatunków *Chenopodium* pokazały, że opisywane sekwencje są doskonałymi narzędziami do badania zależności filogenetycznych. Wykazano, że *C. quinoa* jest znacznie bliżej spokrewniona z *C. berlandieri*, niż z *C. album*. Wykorzystując sekwencje powtarzalne wykazano również, że podgatunek *C. berlandieri* obejmujący rośliny uprawne (*C. berlandieri* subsp. *nuttalliae*) różni się organizacją sekwencji powtarzalnych od podgatunku obejmującego rośliny dziko rosnące (*C. berlandieri* subsp. *berlandieri*). Wynik ten wspiera hipotezę, która postuluje rozdzielenie taksonu *C. berlandieri* na dwa odrębne gatunki: *C. nuttalliae* – rośliny uprawne oraz *C. berlandieri* – rośliny dziko rosnące.

Realizowany w ramach pracy doktorskiej projekt został zgłoszony do Komitetu Badań Naukowych oraz zakwalifikowany do realizacji, jako grant promotorski (Grant KBN nr 3 P04C 006 24, 2003-2005). W czasie studiów doktoranckich uczestniczyłam w kursach oraz stażach (Department of Plant Breeding and Biometry, Agricultural University of Athens, Grecja; Instytut Biotechnologii i Antybiotyków w Warszawie oraz Department of Plant and Animal Sciences, Brigham Young University, Provo, USA), podczas których zapoznałam się z podstawowymi metodami biologii molekularnej i inżynierii genetycznej.

17 września 2004 obroniłam pracę doktorską pod tytułem „Analiza genomów wybranych gatunków *Chenopodium*”, której promotorem była prof. dr hab. Jolanta Małuszyńska. Wyniki pracy zostały przedstawione w sześciu komunikatach konferencyjnych oraz opublikowane już po uzyskaniu stopnia doktora w postaci trzech artykułów (Kolano i wsp., 2005; Maughan i wsp., 2006; Kolano i wsp. 2008).

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych zostałam zatrudniona w Katedrze Anatomii i Cytologii Roślin UŚ na stanowisku adiunkta. Głównym przedmiotem moich zainteresowań pozostała nadal struktura i ewolucji genomów *Chenopodium*, ale prowadziłam także badania nad ewolucją kariotypów innych gatunków oraz brałam udział w projektach badawczych innych naukowców zarówno z Uniwersytetu Śląskiego, jak i z innych ośrodków.

Struktura i ewolucji genomów *Chenopodium s.l.*

Celem analiz prowadzonych nad gatunkami *Chenopodium s.l.* było poznanie zależności filogenetycznych między gatunkami tego taksonu oraz charakterystyka frakcji

powtarzalnego DNA w genomach *Chenopodium s.l.* ze szczególnym naciskiem na gatunki uprawne. Badania nad genomami *Chenopodium s.l.* objęły przedstawicieli wszystkich głównych linii ewolucyjnych wyróżnionych w polifiletycznym rodzaju *Chenopodium s.l.* Wzbogaciłam także swój warsztat o nowe techniki badań. Jedną z nowych technik wprowadzonych do analizy genomu *Chenopodium s.l.* była fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* na rozciągniętych włóknach chromatynowych (*ang. fiber FISH*). Jest to metoda, która pozwala na znacznie większą rozdzielczość obserwacji, niż FISH z wykorzystaniem chromosomów mitotycznych. Możliwa jest dzięki temu szczegółowa analiza układu sekwencji powtarzalnych. Równoczesne zastosowanie dwóch sond, 5S rDNA i sekwencji powtarzalnej *pTaq10* pokazało, że w genomie *C. quinoa* przynajmniej jeden locus 5S rDNA - oprócz tandemowo ułożonych genów rRNA - zawiera także powtórzenia sekwencji *pTaq10*. Wyniki tego eksperymentu zostały razem z danymi z pracy doktorskiej włączone do publikacji w *Journal of Applied Genetics* (Kolano i wsp., 2008a).

Badanie przeprowadzone w trakcie studiów doktoranckich pokazały, że *C. quinoa* to roślina polisomatyczna. Wcześniejsze badania prowadzone były jednak w warunkach kultur *in vitro*, które mogą mieć wpływ na dynamikę procesów endopoliploidalności. Nowy eksperyment przeprowadzono wykorzystując rośliny hodowane w glebie w ściśle kontrolowanych warunkach w komorze hodowlanej. Badaniami objęto kilka wczesnych etapów rozwoju siewek, od zarodka izolowanego z nasion do dwutygodniowej rośliny. Wykazano, że większość analizowanych organów zbudowanych jest z komórek, które znacznie różnią się zawartością DNA (od 2C do 16C), a obserwowane wzory endopoliploidalności były charakterystyczne dla organu i etapu rozwoju. Co ciekawe, komórki endopoliploidalne obserwowane były już w zarodkach izolowanych z napęczniałych nasion. Najwyższy poziom endopoliploidalności obserwowano w zróżnicowanej części korzenia, natomiast w liściach i młodych liścieniach nie wykryto komórek endopoliploidalnych. W porównaniu do roślin hodowanych *in vitro*, obserwowano dla większości organów średnio o jeden cykl endopoliploidalności mniej. Otrzymane wyniki zastały opublikowane w *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* (Kolano i wsp., 2009). Wykonano także analizy porównawcze poziomu endopoliploidalności cytotypów *C. album* różniących się poziomem ploidalności. Uzyskane wyniki, razem z danymi dotyczącymi wielkości genomu i organizacji loci rDNA, zostały opublikowane w *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* (Kolano i wsp., 2008b). Wiedza i doświadczenia zdobyte podczas badań nad procesami endopoliploidyzacji towarzyszącymi rozwojowi roślin z rodzaju

Chenopodium s.l. zostały także wykorzystane podczas przygotowywania rozdziału książki „Plant Genome Diversity“ (Maluszyńska i wsp., 2013).

Dalsze badania nad ewolucją i strukturą genomem *Chenopodium s.l.* prowadzone były w ramach projektu „Charakterystyka genomu roślin z rodzaju *Chenopodium* ze szczególnym uwzględnieniem alternatywnej rośliny uprawnej *C. quinoa*”, który otrzymał finansowanie z MNiSW (umowa nr 3405/B/P01/2008/35; 2008-2011). Realizowany projekt obejmował swym zakresem cytogenetyczno-molekularne badania genomu *C. quinoa* oraz wybranych uprawnych i dziko rosnących gatunków *Chenopodium*. Realizowane w projekcie zadania dotyczyły ewolucji wielkości genomu oraz organizacji różnego typu sekwencji powtarzalnych w genomach *Chenopodium s.l.* Większość otrzymanych i opublikowanych w ramach tego projektu wyników weszła w skład osiągnięcia naukowego (Kolano i wsp., 2011, Kolano i wsp., 2012a; Kolano i wsp., 2012b; Kolano i wsp., 2013). Doświadczenia zdobyte w badaniach nad genomami *Chenopodium* zostały także wykorzystane podczas przygotowywania rozdziału „*Chenopodium*” w *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources* (Jellen i wsp. 2011).

W 2009 roku nawiązałam współpracę naukową z dr hab. Hanną Schneeweiss (Department of Systematic Botany and Evolution, University of Vienna), która w swoich badaniach łączy metody cytogenetyczne z analizami filogenetyki molekularnej, co pozwala na lepsze zrozumienie ewolucji takich cech, jak wielkość genomu czy struktura kariotypu. Współpraca prowadzona w ramach Umowy o Współpracy Naukowo - Technicznej między Rzeczpospolitą Polską, a Republiką Austrii, umożliwiła poszerzenie mojego warsztatu naukowego o metody filogenetyki molekularnej. Nabyte nowe umiejętności, a także uzyskane wstępne wyniki pozwoliły na przygotowanie wniosku do NCN, który został pozytywnie rozpatrzony i otrzymał finansowanie. Celem projektu „Filogeneza i ewolucja uprawnych i dziko rosnących gatunków *Chenopodium*” (umowa nr UMO-2011/01/B/NZ8/00096; 2011-2014) było poznanie zależności filogenetycznych między gatunkami *Chenopodium s.l.*, a następnie na podstawie otrzymanych drzew filogenetycznych przeanalizowanie ewolucji takich cech, jak organizacja loci rDNA czy wielkość genomu. Przeprowadzone badania filogenetyczne diploidalnych *Chenopodium s.l.* pozwoliły na pogrupowanie gatunków w linie ewolucyjne oraz poznanie trendów w ewolucji wielkości genomu i organizacji loci rDNA. Wyniki tych badań zostały opublikowane w *Botanical Journal of Linnean Society* i włączone do osiągnięcia naukowego (Kolano i wsp., 2015). Poznanie zależności filogenetycznych i trendów ewolucyjnych wśród diploidalnych gatunków *Chenopodium s.l.* stanowiło podstawą do badań nad pochodzeniem i ewolucją gatunków poliploidalnych. Badania dotyczyły

głównie poliploidalnych gatunków z *Chenopodium* s.s., należących do dwóch różnych kompleksów: pochodzącego z Ameryki kompleksu *quinoa* – *berlandieri* oraz euroazjatyckiego kompleksu *C. album* agg. Badania filogenetyczne oraz wyniki GISH wykazały, że *C. quinoa* i *C. berlandieri* to allotetraploidy. Jeden z gatunków ancestralnych tych dwóch allotetraploidów podobny był do jednego z dzisiejszych diploidalnych gatunków euroazjatyckich (genom B; genom ojcowski; Ryc. 1). Drugi gatunek ancestralny badanych allotetraploidów podobny był do jednego z dzisiejszych amerykańskich diploidalnych gatunków *Chenopodium* (genom A; genom mateczny). Wyniki GISH sugerują, że gatunkiem ancestralnym dla subgenomu A, *C. quinoa* i *C. berlandieri* był gatunek podobny do *C. watsonii* lub *C. nevadense*. Wyniki badań tej części projektu były prezentowane podczas konferencji Plant Molecular Cytogenetics in Genomic and Postgenomic Era (Katowice, 2014) a przygotowany manuskrypt jest w trakcie recenzji w *Molecular Phylogenetics and Evolution*.

Euroazjatycki *C. album* agg. to grupa o skomplikowanej taksonomii obejmująca gatunki na trzech poziomach ploidalności (diploidalnym, tetraploidalnym, heksaploidalnym). Badania filogenetyczne i GISH wykazały, że heksaploidalne gatunki *C. album*, *C. giganteum* i *C. formosanum* to alloheksaploidy. Domniemanym donorem jednego z subgenomów tych gatunków był diploid z genomem B (subgenom ojcowski). Tetraploidalnym gatunkiem ancestralnym dla trzech analizowanych alloheksaploidów był gatunek podobny do dzisiejszych *C. strictum* lub *C. stratiforme* (subgenom mateczny). Analizy filogenetyczne wskazywały, że allopoliploidalnymi gatunkami są także tetraploidalne *C. strictum* i *C. stratiforme*, jednak nie udało się zidentyfikować gatunków ancestralnych dla tych dwóch taksonów.

Genomy poliploidów nie są prostą sumą genomów ancestralnych ale dzięki diploidyzacji (obejmującej zarówno zmiany na poziomie genetycznym, epigenetycznym, jak i chromosomowym) powstaje nowy, „kolektywny genom”, będący wynikiem interakcji między genomami ancestralnymi (Weiss-Schneeweiss i wsp., 2013). Porównanie wielkości genomu analizowanych poliploidów z genomami diploidów - hipotetycznych gatunków ancestralnych - wykazało, że zawartość jądrowego DNA zarówno u amerykańskich allotetraploidów, jak i u euroazjatyckich heksaploidów jest sumą wielkości genomów odpowiednich gatunków ancestralnych. Porównanie organizacji loci rDNA w genomach allotetraploidalnych *C. quinoa* i *C. berlandieri* z hipotetycznymi gatunkami ancestralnymi wykazało, że w toku ewolucji allotetraploidów locus 35S rDNA pochodzący z genomu matecznego (genom A) uległ eliminacji. Zarówno w genomie *C. quinoa* jak i *C. berlandieri* pozostał locus (lub dwa loci w niektórych genotypach *C. berlandieri*), pochodzący z genomu

B (genom ojcowski). Dane z analiz sekwencji nrITS (ITS1-5,8S rDNA-ITS2) potwierdziły, że w genomach tych allotetraploidów obecny jest tylko jeden typ sekwencji nrITS, podobny do występującego u diploidów reprezentujących genom B. Natomiast liczba loci 35S rDNA w genomach euroazjatyckich alloheksaploidów wydaje się być sumą loci występujących w genomach gatunków ancestralnych. Analiza sekwencji wskazuje, że w toku ewolucji sekwencje nrITS w genomach alloheksaploidów uległy homogenizacji. W genomach *C. giganteum* i *C. formosanum* obecny jest typ sekwencji nrITS podobny do *C. strictum* (genom mateczny). Natomiast badane populacje *C. album* różniły się typem sekwencji nrITS. Większość z nich posiadała typ sekwencji nrITS podobny do *C. strictum* (genom mateczny), ale wśród analizowanych populacji były także sekwencje z typem sekwencji nrITS podobnej do diploidów z genomem B (genom ojcowski). Występowanie genotypów heksaploidalnego *C. album*, różniących się sekwencją nrITS sugeruje, że gatunek ten mógł powstawać wielokrotnie poprzez hybrydyzację tych samych gatunków ancestralnych. Liczba loci 5S rDNA w genomach amerykańskich allotetraploidów oraz trzech alloheksaploidów (*C. album*, *C. giganteum* i *C. formosanum*) wydaje się być sumą liczby loci gatunków ancestralnych. W żadnym z genomów opisywanych poliploidów nie nastąpiła homogenizacja sekwencji niekodujących genów 5S rRNA. Z grupy taksonów heksaploidalnych, zaliczanych do *C. album* agg., wyraźnie wyróżniał się *C. opulifolium*. Wyniki analiz filogenetycznych i GISH pokazały, że jednym z gatunków ancestralnych dla *C. opulifolium* mógł być diploid z genomem B. Pozostałe gatunki ancestralne pozostają nieznane. Poza tym, *C. opulifolium* posiada znacznie większy genom niż pozostałe heksaploidy oraz inną organizację loci rDNA. Wyniki analiz porównawczych sugerują, że przynajmniej w przypadku genów 35S rRNA, specjacji tego gatunku towarzyszyła utrata locus/loci tych sekwencji. Wyniki badań tej części projektu są przygotowywane do publikacji. Moje doświadczenie w badaniach nad genomem *Chenopodium* wykorzystałam także w przygotowaniu rozdziału książki, opisującej aktualny stan wiedzy na temat *C. quinoa*, wydanej przez FAO z okazji międzynarodowego roku *C. quinoa* (Jellen i wsp., 2014).

Wyjaśnienie zależności filogenetycznych w obrębie *Chenopodium s.s* wymaga dalszych badań i zastosowania dodatkowych markerów. Najlepszymi kandydatami wydają się być sekwencje unikatowe pochodzące z genomu jądrowego (*ang. single copy markers*). Wstępne badania nad możliwością zastosowania tego typu sekwencji zostały już przeprowadzone podczas kolejnych staży w Departament of Systematic Botany and Evolution (University of Vienna). Przeprowadzone zostały także wstępne analizy sekwencji powtarzalnych w genomie *Chenopodium* z wykorzystaniem technologii NGS (*ang. Next-Generation Sequencing*).

Otrzymane dane będą podstawą do opracowania wniosku o finansowanie badań nad organizacją i ewolucją sekwencji powtarzalnych w genomach *Chenopodium s.s.*. Planowane badania będą miały na celu porównanie dynamiki procesów amplifikacji/eliminacji sekwencji powtarzalnych podczas ewolucji diploidalnych gatunków *Chenopodium s.s.*, różniących się wielkością genomu (genom A *versus* genom B). Z kolei porównawcze analizy poliploidów i ich gatunków ancestralnych pozwolą na lepsze zrozumienie roli, jaką pełnią rearanżacje sekwencji powtarzalnych w procesie stabilizacji genomów u poliploidów.

Struktura i ewolucja kariotypów wybranych gatunków okrytonasiennych

Równoległe z opisanymi wyżej badaniami nad gatunkami *Chenopodium*, należącymi do głównego nurtu moich zainteresowań naukowych, prowadziłam badania nad strukturą i ewolucją kariotypów innych grup roślin okrytonasiennych. *Amaranthus* to rodzaj roślin jednorocznych, wśród których jest kilka gatunków uprawnych np. *A. caudatus* czy *A. cruentus*, cieszących się coraz większym zainteresowaniem. Większość gatunków *Amaranthus* to rośliny tetraploidalne posiadające $2n = 32$ lub 34 chromosomy. Co ciekawe, w obrębie jednego gatunku mogą występować cytotypy różniące się liczbą chromosomów. Analizy porównawcze kariotypów gatunków *Amaranthus* o małych i słabo zróżnicowanych chromosomach, możliwe są jedynie z wykorzystaniem dodatkowych, względem morfometrycznych, markerów chromosomowych (np. sekwencje rDNA). W genomach rodzaju *Amaranthus* występuje większe zróżnicowanie wzorów chromosomowej organizacji loci rDNA, niż w genomach *Chenopodium* (obydwa rodzaje należą do tej samej rodziny *Amaranthaceae*). W zależności od gatunku, sekwencje rDNA dostarczyły markerów dla od jednej do ośmiu par chromosomów homologicznych. Wyjątkiem jest podsekcja *Hybrida*, w której większość analizowanych gatunków cechowała się taką samą liczbą i lokalizacją loci rDNA. W pozostałych sekcjach każdy z analizowanych gatunków wykazywał unikatowy wzór liczby i rozmieszczenia loci rDNA. Kilka gatunków *Amaranthus* wykazuje polimorfizm liczby loci zarówno 5S rDNA, jak i 35S rDNA. Obserwowane w rodzaju *Amaranthus* dosyć duże zróżnicowanie międzygatunkowe i wewnątrzgatunkowe wzorów organizacji loci rDNA może sugerować stosunkowo dużą rolę przemian chromosomowych w specjacji tych gatunków. Badania organizacji loci rDNA w genomie *Amaranthus* zostały opublikowane w artykule w *Scientia Horticulturae* (Kolano i wsp., 2013).

Sekwencje rDNA okazały się być także bardzo pomocne w analizach porównawczych gatunków *Centaurea* (*Asteraceae*). Zainteresowanie się tą grupą roślin było wynikiem współpracy z dr Teresą Nowak (Katedra Botaniki i Ochrony Środowiska, WBiOŚ

Uniwersytetu Śląskiego). Badaniami, prowadzonymi razem z studentką Martą Dydak, której pracy magisterskiej byłam bezpośrednim opiekunem naukowym, objęto trzy gatunki: *C. oxylepis*, *C. phrygia*, *C. jacea*. Wykazano, że wszystkie gatunki mają taką samą podstawową liczbę chromosomów $x = 11$. *C. phrygia* jest diploidem, a dwa pozostałe gatunki są tetraploidami. Wszystkie badane gatunki mają stosunkowo mały genom, o zawartości około 1 pg DNA/1C. W diploidalnym genomie *C. phrygia* loci 35S rDNA położone są terminalnie w trzech parach chromosomów. Loci 5S rDNA wykazują się odmienną lokalizacją chromosomową: jeden locus położony jest subterminalnie, a drugi przycentromerowo. Gatunki tetraploidalne posiadają zduplikowaną liczbę loci rDNA. Zastosowanie sekwencji rDNA pozwoliło na identyfikację pięciu par chromosomów homologicznych w kariotypie diploida oraz dziewięciu lub dziesięciu par w kariotypach tetraploidów. Tetraploidalny *C. jacea* jest gatunkiem szeroko rozpowszechnionym w Polsce i cechującym się dużym zróżnicowaniem morfologicznym. Porównując wyniki badań cytogenetycznych genomu kilku populacji tetraploidalnego *C. jacea* wykazano, że na poziomie cytogenetycznym gatunek ten również cechuje duże zróżnicowanie wewnątrzgatunkowe. Wyniki badań nad gatunkami *Centaurea* zostały opublikowane w roku 2009 w periodyku *Hereditas* (Dydak i wsp., 2009).

Uczestniczyłam także w realizacji projektów dotyczących struktury i ewolucji chromosomów oraz kariotypów realizowanych przez innych naukowców w różnych ośrodkach. W 2005 roku otrzymałam propozycję stażu postdoktorskiego w Department of Horticulture, Wisconsin University, USA. W ramach tego stażu brałam udziału w projekcie badawczym „Structure and function of plant centromeres” prowadzonym pod kierunkiem prof. Jiming Jianga. Uczestniczyłam w realizacji dwóch projektów dotyczących struktury i funkcji centromerów. Pierwszy z projektów miał za zadanie oszacowanie długości tandemowych powtórzeń sekwencji satelitarnej *CentO* w wybranych centromerach ryżu. *CentO* jest sekwencją niezbędną dla funkcjonowania centromerów ryżu, ponieważ to ona łączy się z centromerowo specyficznym histonem H3. Wyzaczyłam długość powtórzeń sekwencji centromerowej *CentO* dla trzech chromosomów ryżu w dwóch podgatunkach *Oryza sativa* subsp. *japonica* i *O. sativa* subsp. *indica*. Równocześnie uczestniczyłam w realizacji drugiego projektu, którego celem była analiza potranslacyjnych modyfikacji histonów w chromosomach zestawu A i B *Zea mays*. Realizacja tego projektu umożliwiła mi poznanie wielu technik związanych z immunocytochemicznym wykrywaniem białek w chromosomach i jądrach interfazowych oraz z metodą immunoprecypitacji chromatyny

(ChIP). Wyniki moich eksperymentów stały się częścią publikacji w *Chromosome Research* (Jin i wsp. 2008).

Dane na temat liczby i morfologii chromosomów są bardzo istotnymi informacjami w badaniach taksonomicznych, biogeograficznych i ekologicznych. Wykazano, że jednym z najważniejszych czynników wpływających na ogromne zróżnicowanie populacji *Oxalis* w południowej Afryce są duże różnice w liczbie chromosomów, wynikające zarówno z poliploidalności jak i z dysploidalności (zróżnicowanie podstawowej liczby chromosomów). Badania nad ewolucją kariotypu *Oxalis* prowadzę w ramach projektu "Polyploid evolution in the Cape flora: insights from the key geophytic genus" realizowanego przez zespół prof. Jana Sudy (Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, Pruhonice). Gatunki należące do tego rodzaju reprezentują trzy różne podstawowe liczby chromosomów $x = 5, 6$ i 7 . Dodatkowo każdy z gatunków występuje na kilku różnych poziomach ploidalności. Dotychczas opublikowano w *Annals of Botany* wyniki dotyczące jednego gatunku *O. obtusa* (Krejčíková i wsp. 2013). Wykazano, że gatunek ten, o podstawowej liczbie chromosomów $x = 7$, występuje na sześciu różnych poziomach ploidalności ($2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 8x$). Populacje występujące w środowisku naturalnym obejmują najczęściej rośliny na tym samym poziomie ploidalności. Miksoploidalne populacje także występują, ale są znacznie rzadsze. Zaobserwowano, że istnieje związek pomiędzy niektórymi cechami siedliska a cytotypem populacji.

Badania liczby i morfologii chromosomów są także bardzo przydatne w identyfikacji hybryd międzygatunkowych. Hybrydyzacja jest zjawiskiem częstym wśród roślin i może mieć duży wpływ na zróżnicowanie genetyczne i ekologię sympatrycznie występujących populacji mieszańca i jego gatunków rodzicielskich. Jednym z najlepszych modeli do badań nad znaczeniem hybrydyzacji w ewolucji takich skomplikowanych cech, jak ekologia zapylania wydają się być gatunki *Arum maculatum* i *A. italicum* oraz ich mieszańce międzygatunkowe. Kwiatostany tych gatunków tworzą pułapki w których zamykane są owady zapylające, co umożliwia stosunkowo łatwe określenie preferowanych gatunków zapylaczy. Dodatkowo gatunki te różnią się liczbą chromosomów (*A. italicum* $2n = 84$; *A. maculatum* $2n = 56$) co umożliwia łatwą identyfikację mieszańców międzygatunkowych ($2n = 70$). Analizy liczby chromosomów *Arum* prowadziłam we współpracy z dr Marion Chartier (Department of Botany and Biodiversity Research, University of Vienna) w ramach realizowanego przez nią projektu nad ekologią zapylania i morfologią kwiatostanów mieszańców europejskich taksonów *Arum*. Wykazano, że mieszańce *Arum* cechują się morfologią kwiatostanów przypominającą bardziej *A. italicum*, niż *A. maculatum*. Zapach

kwiatów mieszańca bardziej przypominał *A. italicum*, jednak posiadał także kilka składników zapachu *A. maculatum*. Skład gatunkowy i zróżnicowanie zapylaczy hybryd *Arum* jest bardziej podobny do *A. italicum*, niż *A. maculatum*. Publikacja prezentująca wyniki tej współpracy została przyjęta do druku w *Oecologia* (Chartier i wsp., przyjęte do druku).

Mieszańcem międzygatunkowym jest także *Reynoutria bohemica*, który wraz ze swoimi hipotetycznymi gatunkami ancestralnymi: *R. sachalinensis* i *R. japonica* uważany jest za jeden z najbardziej inwazyjnych taksonów roślinnych. Analizy kariotypów gatunków *Reynoutria* prowadziłam we współpracę z grupą prof. dr hab. Tokarskiej-Guzik (Katedra Botaniki i Ochrony Przyrody, Uniwersytet Śląski w Katowicach) w projekcie „Sukces kolonizacyjny inwazyjnych taksonów z rodzaju *Reynoutria* a zagrożenia różnorodności biologicznej dolin rzecznych” (grant MNiSW).

Wykorzystanie technik genetycznych i cytogenetycznych w hodowli roślin i testach środowiskowych.

Chociaż moje zainteresowania naukowe dotyczą zasadniczo ewolucji kariotypów, ewolucji sekwencji powtarzalnych i ewolucji poliploidów, zaangażowałam się także w projekty związane z wykorzystaniem technik genetycznych i cytogenetycznych w hodowli roślin i testach środowiskowych. We współczesnej hodowli roślin markery molekularne, pozwalające na szybką identyfikację genotypu, są często używane do identyfikacji odmian uprawnych. Bardzo trudne do identyfikacji, jedynie w oparciu o cechy morfologiczne (szczególnie na wczesnych etapach rozwoju), są odmiany *Olea europea*, jednej z najważniejszych roślin uprawnych basenu Morza Śródziemnego. Prace nad opracowaniem systemów markerów molekularnych, które pozwoliłyby na rozróżnienie ponad 1200 odmian uprawnych tego gatunku, trwają od wielu lat. Opracowanie systemu markerów ISSR (ang. inter sequence repeat), który pozwolił na identyfikację 31 odmian *Olea europea* uprawianych w Grecji, było wynikiem analiz, w które zaangażowałam się w trakcie stażu w Department of Plant Breeding and Biometry, Agricultural University of Athens. Otrzymane wyniki zostały opublikowane w *Scientia Horticulture* (Terzopoulos i wsp., 2005).

W hodowli nowych odmian roślin często wykorzystuje się krzyżówki międzygatunkowe, jako metodę pozwalającą na przenoszenie np. genów odporności na patogeny do gatunków uprawnych. Charakterystyka międzygatunkowych mieszańców somatycznych *Solanum* (diploidalny *Solanum villosum* (+) tetraploidalny *S. tuberosum*) odpornych na fitoftorę, była przedmiotem mojej współpracy naukowej z mgr Justyną Tarwacką z Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN. Mieszańce otrzymano poprzez

fuzje protoplastów były heksaploidami o cechach morfologicznych pośrednich w stosunku do gatunków rodzicielskich. Wykorzystanie genomowej hybrydyzacji *in situ* (GISH) pozwoliło na wyróżnienie w genomach mieszańców chromosomów należących do obydwu gatunków rodzicielskich i tym samym potwierdziło mieszańcowy charakter otrzymanych roślin. Wyniki współpracy opublikowane zostały w *Journal of Plant Physiology* (Tarwacka i wsp., 2013).

Ostatnim kierunkiem moich zainteresowań badawczych było wykorzystanie techniki FISH do detekcji uszkodzeń DNA w materiale roślinnym. W trakcie studiów doktoranckich dołączyłam do zespołu dr hab. Jolanty Kwaśniewskiej, realizującego grant „Mutagenesis and physical mapping of genes in crops with small chromosomes”, który finansowany był przez Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Brałam także udział w organizacji międzynarodowego kursu „*Bioassays in Plant Cells for Improvement of Ecosystem and Human Health*” (2002 rok) w ramach 5 Ramowego Programu „Confirming the International Role of Community Research” – INCO, oraz programu badawczego „Improving the quality of life and management of living resources”. W trakcie kursu byłam jedną z prowadzących zajęcia, a opracowany na tę okazję protokół FISH (Kolano i wsp., 2003) został włączony do publikacji w postaci książki wydanej przez Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego. Dalsza współpraca z dr hab. Jolantą Kwaśniewską miała na celu opracowanie i optymalizację metody wykorzystującej FISH do detekcji pęknięć DNA w teście kometowym (ang. comet-FISH) w badaniach komórek roślinnych. Zastosowanie testu kometowego w kombinacji z FISH umożliwiło analizę udziału wybranych regionów chromosomów w pęknięciach DNA. Celem badań było ustalenie, czy geny rRNA są preferencyjnie zaangażowane w tworzenie ogona komety po działaniu mutagenu chemicznego - hydrazynu kwasu maleinowego (MH). Wykazano zróżnicowaną wrażliwość sekwencji rDNA w odpowiedzi na traktowanie MH, 5S rDNA było częściej zaangażowane w tworzenie ogona komet, niż 35S rDNA. Różnica w odpowiedzi 5S rDNA i 35S rDNA na działanie mutagenu prawdopodobnie wynikała z lokalizacji tych sekwencji w obrębie regionów chromatyny o różnej strukturze. Wyniki tej współpracy opublikowane zostały w *Environmental and Molecular Mutagenesis* (Kwasniewska i wsp. 2013).

Otrzymane wyniki badań umożliwiły mi aktywne uczestniczenie w licznych krajowych i zagranicznych konferencjach, seminariach, zjazdach i sympozjach (zał. 4 pkt. B), podczas których nie tylko prezentowałam wyniki badań, ale również nawiązałam szereg ciekawych kontaktów naukowych. Byłam recenzentem 12 prac naukowych w dziewięciu czasopismach naukowych takich jak *Cytogenetic and Genome Research*, *Plant Biology* czy *Nordic Journal of Botany* (zał. 4 pkt. H).

Podsumowując na mój dorobek naukowy składa się:

18 publikacji doświadczalnych (z listy filadelfijskiej), trzy rozdziały książek (w języku angielskim) i dwie publikacje pełnotekstowe w materiałach zjazdowych, 854 sekwencji nukleotydowych opublikowanych w bazie National Center for Biotechnology Information (GenBank) oraz 24 doniesienia zjazdowe.

Dane bibliometryczne:

^aWartość IF wg JCR dla publikacji opublikowanych przed 2015 rokiem podano zgodnie z rokiem ich opublikowania. Dla publikacji opublikowanych w 2015 roku podano IF5-letni

^bPunktację MNiSW dla poszczególnych publikacji podano zgodnie z punktacją określoną w wykazie czasopism naukowych obowiązującym na koniec roku kalendarzowego, w którym ukazała się publikacja.

^{c,d}Dane z dnia: 12.01.2016. (Liczba cytowań bez autocytacji)

1. Sumaryczny impact factor publikacji naukowych według listy Journal Citation Reports (JCR)^a – **35,909**
2. Sumaryczna liczba punktów MNiSW^b - **472**
3. Liczba cytowań publikacji^c według bazy Web of Science –162 (111), według bazy Scopus – 175 (128)
4. Indeks Hirscha^d według bazy Web of Science (WoS) – **8**, według bazy Scopus – **8**.

Pozostałe prace nie wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

Chartier M., Liagre S., Weiss-Schneeweiss H., **Kolano B.**, Bessiere J.M., Schönenberger J., Gibernau M. Floral traits and pollination ecology of European *Arum* hybrids. *Oecologia* (przyjęte do druku). DOI 10.1007/s00442-015-3498-9
IF_{5-letni} 3,617, MNiSW 30 pkt, Cyt.:0 WoS,0 Scopus

Jellen E.N., Maughan P.J., Fuentes F., **Kolano B.A.** 2014. Botany, phylogeny and evolution. In: The state of the world's quinoa, Didier Bazile, Daniel Bertero, Carlos Nieto (eds): Regional Office for Latin America And Caribbean at Food and Agriculture Organization (FAO), pp: 12-23
IF – nie dotyczy, MNiSW 5 pkt

Kolano B., Saracka K., Broda-Cnota A, Maluszynska J. 2013. Localisation of ribosomal DNA and CMA3/DAPI heterochromatin in cultivated and wild *Amaranthus* species. *Scientia Horticulturae* 164:249-255.
IF₂₀₁₃ 1,504, MNiSW 35 pkt, Cyt.: 1(0) WoS 0; Scopus 1 (0)

Krejčíková J., Sudová R., Lucanová M., Trávníček P., Urfus T., Vít P., Weiss-Schneeweiss H., **Kolano B.**, Oberlander K., Dreyer L.L., Suda J. 2013. High ploidy diversity and distinct patterns of cytotype distribution in a widespread species of *Oxalis* in the Greater Cape Floristic Region. *Annals of Botany* 111: 641-649.
IF₂₀₁₃ 3,295, MNiSW 40 pkt, Cyt.: WoS 9 (5); Scopus 8 (5)

- Tarwacka J., Polkowska-Kowalczyk L., **Kolano B.**, Śliwka J., Wielgat B. 2013. Interspecific somatic hybrids *Solanum villosum* (+) *S. tuberosum*, resistant to *Phytophthora infestans*. *Journal of Plant Physiology* 170:1541-1548.
IF₂₀₁₃ 2,770, MNiSW 35 pkt, Cyt.: WoS 4 (4); Scopus 5 (5)
- Kwasniewska J., Grabowska M., Kwasniewski M., **Kolano B.** 2012. Comet-FISH with rDNA probes for the analysis of mutagen-induced DNA damage in plant cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 5:369-375.
IF₂₀₁₂ 3,708, MNiSW 30 pkt, Cyt.: WoS 7 (4); Scopus 8 (5)
- Maluszynska J., **Kolano B.**, Sas-Nowosielska H. 2012. Endopolyploidy in plants. In *Plant Genome Diversity*, vol. 2, Springer-Wien, pp: 99-119
IF – nie dotyczy, MNiSW 5 pkt.
- Jellen E.N., **Kolano B.A.**, Sederberg M.C., Bonifacio, A., Maughan P.J. 2011. Wild and Weedy Genetic Resources for Improving the Quinoas. In: Kole C. (ed) *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, pp: 35-61
IF – nie dotyczy, MNiSW 5 pkt
- Dydak M., **Kolano B.**, Nowak T., Siwinska D., Maluszynska J. 2009. Cytogenetic studies of three European species of *Centaurea* L. (Asteraceae). *Hereditas* 146: 152–161
IF₂₀₀₉ 0,873, MNiSW 13 pkt, Cyt.: WoS 12 (10); Scopus 13 (10).
- Kolano B.**, Siwinska D., Maluszynska J. 2009. Endopolyploidy patterns during plant development of *Chenopodium quinoa*. *Acta Biologica Cracoviensia series Botanica* 51/2: 85-92.
IF₂₀₀₉ 0,571, MNiSW 13 pkt, Cyt.: WoS 2 (1); Scopus 6 (4)
- Jin W., Lamb J.C., Zhang W., **Kolano B.**, Birchler J.A., Jiang J. 2008. Histone modifications associated with both A and B chromosomes of maize. *Chromosome Research* 16: 1203-1214.
IF₂₀₀₈ 3,405, MNiSW 27 pkt, Cyt.: WoS 33 (27); Scopus 37 (29)
- Kolano B.**, Plucienniczak A., Kwasniewski M., Maluszynska J. 2008a. Chromosomal localization of a novel repetitive sequence in the *Chenopodium quinoa* genome. *Journal of Applied Genetics* 49: 313–320.
IF₂₀₀₈ 1,351, MNiSW 20 pkt, Cyt.: WoS 6 (2); Scopus 7 (3)
- Kolano B.**, Siwinska D., Maluszynska J. 2008b. Comparative cytogenetic analysis of diploid and hexaploid *Chenopodium album* agg. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 77: 293-298.
IF₂₀₀₈ 0,418, MNiSW 13 pkt, Cyt.: WoS 8 (4); Scopus 11 (6)
- Maughan P.J., **Kolano B.A.**, Maluszynska J., Coles N.D., Bonifacio A., Rojas J., Coleman C.E., Stevens M.R., Fairbanks D.J., Parkinson S.E., Hellen E.N. 2006. Molecular and cytological characterization of ribosomal RNA genes in *Chenopodium quinoa* and *Chenopodium berlandieri*. *Genome* 49: 825-839.
IF₂₀₀₆ 1,972, MNiSW 20 pkt, Cyt.: WoS 26 (16); Scopus 29 (17)

Terzopoulos P.J., **Kolano B.**, Bebeli P.J., Kaltsikes P.J., Metzidakis I. 2005. Identification of *Olea europaea* L. cultivars using inter-simple sequence repeat markers. *Scientia Horticulturae* 105: 45-51.

IF₂₀₀₅ 0,583, MNiSW 20 pkt, Cyt.: WoS 24 (21); Scopus 28 (25)

Kolano B., Siwińska D., Maluszyńska J. 2005. Molecular cytogenetic analysis of genome structure in *Chenopodium album* complex. In: Prus-Głowacki W., Pawlaczyk E. (Eds). *Variability and Evolution – New Perspectives*. UAM, Seria Biologia 72: 507-517.

IF - nie dotyczy, MNiSW 7 pkt

Kolano B., Wolny E., Maluszynska J. 2003; Fluorescent *in situ* hybridization in plant mutagenesis. In: Maluszynska J., Plewa M. (eds) *Bioassays in Plant Cells for Improvement of Ecosystem and Human Health*, Podręczniki i Skrypty Uniwersytetu Śląskiego, Katowice, pp: 139 – 148.

IF – nie dotyczy, MNiSW 7 pkt

Kolano B., Pando L.G., Maluszynska J. 2001. Molecular cytogenetic studies in *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus caudatus*. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 70:85-90.

IF₂₀₀₁ 0,235, MNiSW 7 pkt, Cyt.: WoS 10 (6); Scopus 12 (7)

6. Omówienie osiągnięć dydaktycznych, popularyzatorskich i organizacyjnych

Moja aktywność dydaktyczna na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach obejmowała prowadzenie zajęć dla studentów trzech kierunków studiów: Biotechnologia, Biologia, Ochrona Środowiska, a także dla studentów studiów podyplomowych i studiów doktoranckich. W ramach pracy dydaktycznej prowadziłam ćwiczenia ze studentami z przedmiotów: botanika ogólna, podstawy rozwoju eucariota, cytogenetyka roślin, cytogenetyka molekularna, biologia komórki, embriologia, inżynieria genetyczna, pracownie licencjackie, specjalizacyjne i magisterskie oraz wykłady z przedmiotów: botanika ogólna i cytogenetyka roślin. Jestem współautorem programu zajęć z przedmiotu botanika ogólna i autorem programu zajęć z cytogenetyki roślin. Jestem także koordynatorem tych dwóch przedmiotów. Prowadzę także autorskie zajęcia w ramach kursu "Plant morphogenesis *in vivo* and *in vitro*" dla studentów studiów doktoranckich (Zał. 4, pkt. K). Od 2013 roku jestem członkiem Rady Programowej Kierunku Biotechnologia przy Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach.

W latach 2005-2013 byłam promotorem 12 prac licencjackich i bezpośrednim opiekunem naukowym 14 prac magisterskich. W ramach studiów zamawianych „Atrakcyjna i Innowacyjna Biotechnologia” (ATRINBIOTECH), realizowanych na naszym Wydziale, opracowałam i prowadziłam ćwiczenia z przedmiotu „Advanced molecular cytogenetics”. Od 2000 roku, jestem opiekunem Wydziałowej Pracowni Mikroskopii Optycznej. W tym czasie

przeszkoliłam wielu nowych użytkowników mikroskopu fluorescencyjnego oraz organizowałam pokazy mikroskopii fluorescencyjnej dla grup młodzieży w wieku szkolnym.

Zdobyte w trakcie badań doświadczenie pozwoliło mi na udział w organizacji i prowadzenie zajęć w trakcie międzynarodowych warsztatów „Bioassays in plant cells for improvement of ecosystem and human health” (Katowice, 2003 r.). Byłam współorganizatorem, a także prowadziłam wykłady i zajęcia laboratoryjne w trakcie międzynarodowego kursu „Plant Cytogenetics Training Workshop” (Madison, USA, 2006). Byłam również osobą odpowiedzialną za organizację i prowadzenie zajęć podczas kursu „Wykorzystanie technik cytogenetyki molekularnej w analizie genomu roślinnego” (Katowice, 2007 r.). Podczas realizacji projektu w ramach Umowy o Współpracy Naukowo-Technicznej między Rzeczpospolitą Polską, a Republiką Austrii (2010-2013), zorganizowane zostały stypendia umożliwiające wyjazd na miesięczny staż do Department of Systematic Botany and Evolution, University of Vienna dwóm magistrantkom oraz jednej doktorantce. W tym samym czasie opiekowałam się trzema osobami z University of Vienna, którzy przyjechali do Katedry Anatomii i Cytologii Roślin UŚ. Byłam także osobą odpowiedzialną za zorganizowanie pobytu w naszej Katedrze doktoranta z Agricultural University of Athens Grecja (2000) oraz doktorantki z Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic (2012).

18.01.2016

Bożena Kolano