

## Streszczenie

### Genomika porównawcza linii ogórka *Cucumis sativus* L. uzyskanych w wyniku transgenezy oraz regeneracji *in vitro*

Spontanicznie występująca zmienność genetyczna napędza ewolucję i pozwala na dostosowywanie się organizmów do wciąż zmieniających się warunków środowiska. Do celów hodowli, uzyskiwania nowych odmian roślin i ulepszania już istniejących, opracowano szereg metod, które pozwalają na zwiększenie zmienności genetycznej. Metody te obejmują między innymi mutagenezę, wykorzystanie zmienności somaklonalnej czy nowoczesne techniki inżynierii genetycznej jak transformacja i edytowanie genomów. Nie wszystkie metody generowania zmienności są jednak uważane za bezpieczne. Stosowanie na przykład transformacji w celu wprowadzenia nowych genów budzi powszechny sprzeciw społeczeństwa.

Celem niniejszej pracy było badanie wpływu wykorzystania metod generowania zmienności jakimi są transformacja i regeneracja w kulturach *in vitro* na powstawanie wariantów genomowych. Wykonana została analiza polimorfizmów genomowych w liniach ogórka uzyskanych w procesie transformacji oraz regeneracji *in vitro* w odniesieniu do genomu linii referencyjnej B10. Przed przystąpieniem do właściwych analiz wykonane zostało porównanie różnych narzędzi bioinformatycznych do złożenia *de novo* genomów analizowanych linii ogórka z krótkich odczytów sekwencyjnych. Dokonano również porównania narzędzi do typowania małych wariantów genomowych w celu wyboru odpowiedniej metodyki dla analizowanych danych. Linie transgeniczne poddane zostały analizie określenia liczby kopii, a także miejsca i sposobu integracji transgeny do genomu jądrowego ogórka.

Genomika porównawcza linii transgenicznych z wprowadzonym genem *taumatyny II* oraz linii uzyskanych w wyniku regeneracji w kulturach *in vitro* wykazała, że proces transformacji generuje znacznie mniej zmian niż procedura otrzymywania mutantów somaklonalnych. Wyniki sugerują, że większość polimorfizmów genomowych obserwowanych w liniach transgenicznych jest wynikiem przebywania roślin w warunkach *in vitro*, a sam proces integracji transgeny nie wpływa znacząco na powstawanie wariantów w genomie ogórka. Badania wariantów genomowych w różnych liniach somaklonalnych wskazują, że na liczbę i rodzaj polimorfizmów ma wpływ przede wszystkim czas przebywania w warunkach *in vitro* oraz typ stosowanej kultury. Obserwowane polimorfizmy występują w genomie w losowej pozycji oraz rzadziej powstają w obrębie regionów kodujących.

Uzyskane wyniki wskazują na większy wpływ długotrwałego przebywania roślin w sztucznych warunkach kultur *in vitro* na generowanie polimorfizmów genomowych niż sam proces transformacji i integracji transgeny do genomu ogórka. Wyniki przeprowadzonych badań mogą posłużyć do dalszych analiz wpływu metod generowania zmienności u roślin i bezpieczeństwa ich stosowania.

**Słowa kluczowe:** genomika porównawcza, polimorfizmy, zmienność somaklonalna, transgeneza, *Cucumis sativus*

## Abstract

### Comparative genomics of cucumber *Cucumis sativus* L. lines derived by transgenesis and *in vitro* regeneration

Spontaneous genetic variation is crucial for evolution and allows organisms to adapt to ever-changing environmental conditions. For breeding, obtaining new plant varieties and improving existing ones, a number of methods have been developed that allow increasing genetic variability. These methods include mutagenesis, the use of somaclonal variation or modern genetic engineering techniques such as transformation and genome editing. However, not all methods of generating variability are considered safe. The use of transformation to introduce new genes, for example, is widely opposed by society.

The aim of this study was to investigate the impact of the use of variability generation methods, such as transformation and regeneration in *in vitro* cultures, on the generation of genomic variants. The analysis of genomic polymorphisms in cucumber lines obtained in the process of transformation and *in vitro* regeneration in relation to the genome of the reference line B10 was performed. Before starting the actual analyzes, a comparison of various bioinformatics tools for *de novo* assembly of the genomes of the analyzed cucumber lines from short sequential readings was performed. The tools for typing small genomic variants were also compared in order to select the appropriate methodology for the analyzed data. The transgenic lines were analyzed to determine the copy number as well as the site and manner of transgene integration into the cucumber nuclear genome.

Comparative genomics of transgenic lines with the introduced *thaumatin II* gene and lines obtained as a result of regeneration in *in vitro* cultures have shown that the transformation process generates much less changes than the procedure for obtaining somaclonal mutants. The results suggest that most of the genomic polymorphisms observed in the transgenic lines result from the *in vitro* conditions of plants, and the process of transgene integration itself does not significantly influence the formation of variants in the cucumber genome. Studies of genomic variants in various somaclonal lines indicate that the number and type of polymorphisms are mainly influenced by the *in vitro* culture duration and the type of culture used. The observed polymorphisms occur in a random position in the genome and are less frequent within the coding regions.

The obtained results indicate a greater impact of the long-term stay of plants in artificial conditions of *in vitro* cultures on the generation of genomic polymorphisms than the very process of transformation and integration of the transgene into the cucumber genome. The results of the conducted research can be used for further analysis of the impact of methods of generating variability in plants and their safety of use.

**Key words:** comparative genomics, polymorphisms, somaclonal variation, transgenesis, *Cucumis sativus*