

1. **Imię i nazwisko** Alicja Dołzbłasz

---

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

---

- a) Magister biotechnologii. Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Akademia Rolnicza we Wrocławiu (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy), Wrocław 2006.
  - b) Doktor nauk biologicznych w zakresie biologii. Entwicklungsbiologie und Biotechnologie der Pflanzen (Zakład Biologii Rozwoju i Biotechnologii Roślin), Universität Freiburg (Niemcy) 2010.  
Tytuł rozprawy doktorskiej: „*WUSCHEL* function in shoot apical meristem maintenance of *Arabidopsis thaliana*.” Praca wykonana pod kierunkiem prof. Thomas Laux
  - c) Studia podyplomowe "Menedżer Projektu Badawczo-Rozwojowego" w Wyższej Szkole Bankowej we Wrocławiu (projekt współfinansowany ze środków UE w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego), 2013.
- 

3. **Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych**

---

- 2007- 2010 - umowa o pracę (na czas trwania studiów doktoranckich) w ramach grantu SFB592: "Signal mechanisms in embryogenesis and organogenesis", projekt A10 (Prof. T. Laux) "Stem cell regulation in Arabidopsis plant apical meristems". Entwicklungsbiologie und Biotechnologie der Pflanzen (Zakład Biologii Rozwoju i Biotechnologii Roślin), Universität Freiburg (Niemcy).
  - od 2011 do chwili obecnej – adiunkt w Zakładzie Biologii Rozwoju Roślin, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski.
- 

4. **Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. 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:*

**Regulacja potencjału merystematycznego *Arabidopsis thaliana* w odpowiedzi na czynniki stresowe**

---

b) *Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:*

*IF zgodny z rokiem opublikowania, punkty MNiSW wg listy z dn. 9 grudnia 2016r.  
(\* odnosi się do autora korespondencyjnego)*

1. **Dolzblasz A.\***, Smakowska E., Gola E., Sokołowska K., Kicia M., Janska H.\*  
The mitochondrial protease AtFTSH4 safeguards Arabidopsis shoot apical meristem function. *Scient Rep.* (2016) 6(28315): 1-14 (IF=5.228; MSHE 40) **(P1)**

*Mój wkład w powstanie tej pracy to współudział w opracowaniu koncepcji projektu, zaplanowaniu układu eksperymentalnego i interpretacji wyników w zakresie funkcjonowania merystemów apikalnych u roślin. Ponadto uczestniczyłam w wykonaniu większości eksperymentów i przygotowaniu manuskryptu. Jestem zarówno pierwszym autorem jak i jednym z autorów korespondencyjnych w tej publikacji. Udział procentowy szacuję na 50%.*

2. **Dolzblasz A.\***, Gola E. M., Sokołowska K., Smakowska-Luzan E., Twardawska A., Janska H. Impairment of meristem proliferation in plants lacking the mitochondrial protease AtFTSH4. *Int J Mol Sci.* (2018), 19: 853 (IF 3.687; MSHE 30) **(P2)**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji projektu, zaplanowaniu układu eksperymentalnego i interpretacji wyników. Ponadto uczestniczyłam w wykonaniu eksperymentów, a także napisałam większość manuskryptu. Jestem zarówno pierwszym autorem jak i autorem korespondencyjnym w tej pracy. Udział procentowy szacuję na 60%.*

3. **Dolzblasz A.\***, Dołzblasz S. Arabidopsis temperature stress research. *Acta Soc Bot Pol.* (2018), 87(3):3594 (IF 0.876; MSHE 25) **(P3)**

*Mój wkład w powstanie tej pracy to opracowanie jej koncepcji. Ponadto przygotowałam w całości część biologiczną pracy i współredagowałam fragmenty związane ze zmianami klimatycznymi. Jestem zarówno pierwszym autorem jak i autorem korespondencyjnym. Udział procentowy szacuję na 90%.*

4. **Dolzblasz A.\***, Banasiak A., Vereecke D.\* Neovascularization during leafy gall formation on *Arabidopsis thaliana* upon *Rhodococcus fascians* infection. *Planta.* (2018), 247(1): 215-228 (IF 3.249; MSHE 35) **(P4)**

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu układu eksperymentalnego i interpretacji wyników w odniesieniu do analiz plastyczności merystematycznej Arabidopsis w odpowiedzi na stres biotyczny. Dodatkowo, dopracowałam protokół lokalnej infekcji Arabidopsis przez R. fascians, przeprowadziłam infekcje roślin dzikich i linii transgenicznych pDR5:GUS oraz zebrałam materiał roślinny do dalszych analiz. Wspólnie z dr Banasiak opracowaliśmy model odpowiedzi auksynowej w procesie tworzenia „leafy gall”. Pełniłam też główną rolę podczas przygotowywania manuskryptu; jestem zarówno jednym z pierwszych autorów oraz jednym z autorów korespondencyjnych. Udział procentowy szacuję na 45%.*

Sumaryczny Impact Factor wg listy Journal Citation Reports (JCR) dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wynosi: **13.04**

Sumaryczna liczba punktów wg MNiSW dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wynosi: **130**

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

## Wstęp

---

Zasady tworzenia różnorodności form u roślin wyższych, a więc ich fenotypowa i rozwojowa plastyczność, od lat stanowią istotne zagadnienie badawcze w naukach biologicznych. Wzrost i rozwój roślin jest możliwy dzięki działalności merystemów, szczególnie ważnych struktur roślinnych, w których znajdują się proliferujące, nieodróżniane komórki inicjalne (z ang. *stem cells*). Szczególne znaczenie mają dwa merystemy wierzchołkowe pędu i korzenia (z ang. *shoot and root apical meristems*, odpowiednio SAM i RAM), które powstają już podczas rozwoju zarodkowego, umożliwiając niezdeteminowany wzrost roślin. Ich rola wynika z faktu, że w merystemach utrzymywana jest samoodnawiająca się pula komórek inicjalnych, dająca początek komórkom ciała rośliny warunkująca ich cały rozwój. Aktywność SAM jest odpowiedzialna za tworzenie organów nadziemnych, takich jak m.in. łodyga, liście, pąki pachwinowe, podczas gdy RAM odpowiada za tworzenie systemu korzeniowego. Pokrój rośliny zależy również od aktywności innych merystemów (zarówno pierwotnych jak i wtórnych), takich jak merystemy waskularne (prokambium i kambium), kwiatowe, liściowe czy merystemy korkotwórczej tkanki okrywającej (fellogen) [1]. Liczne badania dotyczące rozwoju fenotypu roślinnego koncentrują się więc na zagadnieniach związanych z analizą potencjału merystematycznego, zwłaszcza w odniesieniu do SAM i RAM. Ponadto, komórki inicjalne (merystematyczne) są szczególnie interesującym obiektem badań ze względu na potencjalną „nieśmiertelność” merystemów co ściśle jest związane z nieograniczonym wzrostem organów osiowych i długowiecznością roślin. Z uwagi na kluczowe znaczenie komórek inicjalnych dla wzrostu i organogenezy potencjał merystematyczny roślin jest przedmiotem wielu nowatorskich badań, koncentrujących się na merystemach wierzchołkowych pędu i korzenia [2-5]. W ostatnich latach uwaga badaczy skupia się również na funkcjonowaniu merystemów waskularnych (np. kambium) zlokalizowanych wewnątrz pędów i korzeni, a przez to trudnych w manipulacji. Wynikiem wzmożonego zainteresowania merystemami waskularnymi są pojawiające się badania na poziomie molekularnym [6,7].

Moje naukowe zainteresowania koncentrują się na merystematycznym potencjale modelowej rośliny *Arabidopsis thaliana* i są głównie związane z badaniami molekularnymi nad funkcjonowaniem SAM. Generalnie, prowadzenie badań bezpośrednio, *in vivo*, na SAM stanowi wyzwanie, między innymi z uwagi na fakt, iż można do nich wykorzystywać mniej technik eksperymentalnych, szczególnie w porównaniu do analiz systemu korzeniowego. Pomimo ograniczeń metodycznych prowadzi się intensywne badania SAM u *Arabidopsis*, które umożliwiły zgromadzenie dużej ilości danych, także w zakresie identyfikacji genów regulujących utrzymanie puli komórek inicjalnych. Kluczowymi regulatorami są między innymi geny *SHOOTMERISTEMLESS (STM)* i *CLAVATA (CLV)*, ulegające ekspresji w nieodróżnionych komórkach SAM oraz *WUSCHEL (WUS)*, który ulega ekspresji w kontrolujących je centralnych komórkach macierzystych (z ang. *organizing center, OC*). Na skutek braku aktywności *STM* lub *WUS*, SAM ulega zahamowaniu, gdyż komórki inicjalne tracą swoją merystematyczną tożsamość. Natomiast brak aktywności genów *CLV* powoduje powiększenie SAM, z powodu uszkodzonej negatywnej regulacji ekspresji genu *WUS* (opisane w pracach przeglądowych [np.8,9]). Należy podkreślić, iż homeostaza merystemu, polegająca na utrzymaniu odpowiedniej liczby podziałów przy równoczesnym utrzymaniu określonej puli komórek inicjalnych podczas kolejnych rund organogenezy, również pod względem funkcjonalności wspomnianych wyżej genów merystematycznych, silnie zależy od wzajemnego oddziaływania różnych hormonów.

Wykazano między innymi, że auksyna jest kluczowym hormonem dla inicjacji zawiązków organów bocznych, podczas gdy cytokinina dla utrzymania stanu proliferacyjnego niezróżnicowanych komórek w SAM [np.10]. Funkcjonowanie i rozwój drugiego merystemu wierzchołkowego, tj. merystemu korzenia (RAM) jest również intensywnie analizowane na poziomie molekularnym. W korzeniu funkcjonalnym odpowiednikiem genu *WUS* (należącym do tej samej rodziny genów) jest *WOX5* (*WUCHEL-RELATED HOMEODOMAIN 5*), ulegający ekspresji w strefie wolno rosnącej korzenia (z ang. *quiescent center*, *QC*). Jest on niezbędny do utrzymania komórek inicjalnych w stanie niezróżnicowanym [4].

Rośliny ze względu na brak możliwości przemieszczania się muszą się dostosowywać do zmieniających się warunków środowiska. Szczególnym przejawem takiego dostosowania się jest ich plastyczność fenotypowa, umożliwiająca uzyskanie odmiennego pokroju całych roślin lub jej fragmentów, w zależności od czynników środowiska pomimo ich wspólnego genotypu. Istnieje wiele opublikowanych prac dotyczących tego w jaki sposób na ogólny pokrój roślin wpływają czynniki środowiskowe, zarówno biotyczne jak i abiotyczne [np.11,12]. Warto podkreślić, że ponieważ wzrost i tworzenie organów bocznych są możliwe dzięki merystemom, w związku z tym również one muszą plastycznie dostosowywać swoją aktywność merystematyczną do bodźców środowiskowych. Stąd też długofalowym efektem adaptacji jest wykształcenie przez rośliny mechanizmów dostosowywania się do panujących warunków środowiskowych.

Jednym z czynników abiotycznych w sposób znaczący wpływających na rozwój roślin jest temperatura, jednak potencjał merystematyczny roślin nie był szczegółowo badany w tym kontekście. Warto zauważyć, że odpowiedź roślin na podwyższoną temperaturę wzrostu była dotychczas badana prawie wyłącznie w RAM [13-15]. Co ciekawe, rośliny odmiennie reagują w zależności od zakresu zmiany temperatury otoczenia: łagodny wzrost temperatury przyczynia się do większego potencjału wzrostowego, a stres cieplny hamuje rozwój [16]. Warto podkreślić, że te dwie odpowiedzi częściowo wykorzystują te same szlaki sygnałowe. Jest to prawdopodobnie wynikiem tego, że w środowisku naturalnym temperatura wzrasta stopniowo i rośliny dostosowując się morfologicznie i fizjologicznie do łagodnego wzrostu temperatury, stają się również bardziej odporne na potencjalny stres cieplny [16,17]. Dlatego też rośliny musiały wykształcić w toku ewolucji mechanizmy zabezpieczające SAM przed wzrostem temperatury otoczenia; mechanizmy te wymagają szczegółowego poznania i opisanie.

Oprócz czynników abiotycznych, na morfologię roślin silnie wpływają również czynniki biotyczne, jak na przykład patogeny roślinne, które mogą wykorzystywać plastyczność rozwojową roślin w celu przeprogramowania rozwoju gospodarza dla własnych korzyści. Elementem tego procesu jest wykorzystywanie przez patogena potencjału merystematycznego roślin, wymuszające zmianę formy jej wzrostu, w celu stworzenia swoistej niszy dla patogena. Wykazano między innymi, iż jeden z najlepiej poznanych fitopatogenów, *Agrobacterium tumefaciens*, stymuluje zmiany wzrostowe rośliny z użyciem hormonów, takich jak auksyna i cytokinina, aby umożliwić tworzenie guzowatych narośli, czyli tzw. *crown gall*, składających się w dużej mierze z niezróżnicowanych komórek [18,19]. Biorąc pod uwagę znaczną różnorodność istniejących fitopatogenów oraz różne efekty ich oddziaływania na rośliny, szczegółowe mechanizmy dotyczące wykorzystania przez nie potencjału merystematycznego rośliny dla własnych korzyści w wielu przypadkach wymaga dopiero poznania.

## **Cel badań**

Głównym celem moich badań była identyfikacja i opis mechanizmów odpowiedzialnych za zmiany w merystematycznym potencjale roślinnych komórek inicjalnych w odpowiedzi na abiotyczne (podwyższona temperatura wzrostu) i biotyczne (zakażenie *Rhodococcus fascians*) czynniki środowiskowe. Badania dotyczące plastyczności komórek inicjalnych

w odpowiedzi na sygnały środowiskowe, prowadzone na różnych poziomach organizacji rośliny (od organizmalnego, poprzez tkankowy i komórkowy, do poziomu molekularnego), mają szczególne znaczenie, gdyż umożliwiają zrozumienie mechanizmów adaptacji roślin do zmieniającego się środowiska. Badania prowadziłam na modelowej roślinie dla badań molekularnych, *Arabidopsis thaliana*, dzięki czemu możliwe jest szybkie pozyskanie danych pozwalających na szczegółowe zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw różnych procesów rozwojowych, w tym samoodtwarzania się merystemu i organogenezy.

### Osiągnięcie naukowe:

---

Pracę naukową nad komórkami inicjalnymi roślin rozpocząłam podczas realizacji pracy doktorskiej w Entwicklungsbiologie und Biotechnologie der Pflanzen (Zakład Biologii Rozwoju i Biotechnologii Roślin), Universität Freiburg (Niemcy), pod kierownictwem profesora Thomasa Laux. Tematyka pracy doktorskiej przyczyniła się do ukierunkowania moich zainteresowań naukowych na problematykę związaną z funkcjonowaniem merystemów wierzchołkowych. Dlatego też po zatrudnieniu w Zakładzie Biologii Rozwoju Roślin na Wydziale Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego (Polska), kierowanym przez profesor Beatę Zagórską-Marek, kontynuowałam swoje badania dotyczące różnych aspektów funkcjonowania merystemów. Głównym przedmiotem moich analiz prowadzonych po doktoracie była zależność między komórkami inicjalnymi a czynnikami środowiskowymi. W 2013 roku uzyskałam grant badawczy SONATA finansowany przez Narodowe Centrum Nauki (NCN) i w latach 2013-2016 roku kierowałam projektem pt. "Mechanizmy zahamowania rozwoju merystemu apikalnego pędu u mutantu *ftsh4 Arabidopsis thaliana* w odpowiedzi na zewnętrzny stres środowiskowy". Projekt ten został zrealizowany we współpracy z prof. Hanną Jańską z Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego. Dwie prace (P1, P2) z mojego osiągnięcia naukowego są bezpośrednim wynikiem jego realizacji. Projekt ten był poświęcony szczegółowej analizie na poziomie molekularnym i komórkowym mechanizmów utrzymania SAM związanych z genem kodującym mitochondrialną proteazę FTSH4. FTSH4 zapobiega akumulacji wewnętrznego stresu oksydacyjnego i umożliwia prawidłowe funkcjonowanie mitochondriów w niekorzystnych warunkach wzrostu. Jednakże rola tej proteazy do tej pory była badana w liściach [m.in. 20,21]. Podjęcie przeze mnie badań nad genem *FTSH4*, wynikało z obecności intrygującego fenotypu zahamowania rozwoju pędu generatywnego, który został zaobserwowany u mutantu w specyficznych warunkach stresu podwyższonej temperatury 30°C. Dzięki analizom prowadzonym w ramach kierowanego przeze mnie projektu na mutancie *ftsh4* i opracowanym w tym celu protokołom do analiz SAM *in vivo* mogłam określić, jak podwyższona temperatura wpływa na SAM. Wyniki tych badań wykazały, że SAM mutantu ulega zahamowaniu po przejściu z fazy wegetatywnej do fazy generatywnej, co potwierdzono w analizach anatomicznych. Dzięki zastosowaniu markerów fluorescencyjnych *in vivo*, qRT-PCR i technik biochemicznych określono iż wewnętrzny stres oksydacyjny ulegał największej akumulacji po kwitnieniu, ale co istotne, był już wykrywany w dojrzałym stadium wegetatywnym SAM. Ponadto, zastosowanie linii transgenicznej z fluorescencyjnie (GFP) wyznakowanymi mitochondriami wykazało istnienie znacznej dysfunkcji mitochondriów już w dojrzałym wegetatywnym SAM, w miejscu gdzie zlokalizowane są komórki inicjalne. Stąd ważnym osiągnięciem moich badań było udowodnienie, że mutanty *ftsh4* wykazują znaczne zmiany rozwojowe już przed przejściem z fazy wegetatywnej do generatywnej. Zostało to dodatkowo udowodnione w eksperymentach ze zmianami temperatury w trakcie wzrostu (z *ang.* "temperature shifts"), które m.in. pokazały, że zmiana temperatury z 30°C do standardowej 22°C w dojrzałym stadium wegetatywnym nie

przywracała potencjału wzrostowego mutantów. Ponadto, stwierdzono, że już przed kwitnieniem, w wegetatywnych wierzchołkach pędów, dochodzi do utraty tożsamości merystematycznej komórek inicjalnych SAM, co dodatkowo zostało potwierdzone przy pomocy analiz ekspresji genów *WUS* i *CLV3* za pomocą qRT-PCR (P1). W celu pełniejszego zrozumienia mechanizmu przedwczesnego zahamowania rozwoju SAM, wyprowadziłam zestaw linii transgeniczných, gdzie u mutantu *ftsh4* gen reporterowy *GUS* ulega ekspresji z promotorów genów merystematycznych (*CLV3* i *STM* dla SAM, *WOX5* dla RAM) i genów związanych z cyklem komórkowym (markera przejścia z fazy G2 do M *CYCB1* dla SAM i RAM oraz markera fazy G1 do S *CyCD3;1* dla SAM). Umożliwiło to przestrzenne określenie tożsamości i aktywności podziałowej komórek inicjalnych. Linie reporterowe *GUS*, wraz z analizami qRT-PCR i fluorescencyjną wizualizacją komórek w fazie S (zestaw Click-IT EdU), pozwoliły więc na czaso-przestrzenne prześledzenie utraty potencjału merystematycznego SAM mutantów *ftsh4* w aspekcie tożsamości i proliferacji komórek inicjalnych, w odpowiedzi na podwyższoną temperaturę. Ponadto - ponieważ również korzenie mutantu rosną znacznie wolniej w podwyższonej temperaturze i charakteryzują się zniekształconymi mitochondriami, co wykazano przy użyciu linii transgenicznej z wyznakowanymi GFP mitochondriami - w ramach kierowanego przez mnie projektu analizowano także mechanizmy regulacyjne związane z ochroną tkanki merystematycznej w RAM. Nasze wyniki pozwoliły udowodnić, że dysfunkcja mitochondriów w RAM nie jest tak silna jak w SAM, ponieważ w korzeniu nie wykryto regionu z tak poważną utratą funkcjonalności mitochondriów jak w SAM (P1, obrazowanie fluorescencyjne). Należy jednak podkreślić, iż mimo słabszej dysfunkcji mitochondriów w RAM, tożsamość merystematyczna i proliferacja komórek inicjalnych ulegały zaburzeniu w obu merystemach wierzchołkowych w podobnym stopniu (P2). Dodatkowo, w ramach prowadzonych przeze mnie badań, dowiodłam również, że u mutantu dochodzi do zmniejszenia aktywności transkrypcyjnej cykliny *CYCB1*, markera przejścia G2/M podczas cyklu komórkowego, i że proces ten zachodzi odmiennie w odniesieniu do tempa zahamowania podziałów komórkowych w SAM i RAM. Może to sugerować istnienie różnych mechanizmów powodujących zahamowanie funkcjonowania merystemów w pędzie i korzeniu. Dodatkowo udowodniłam, że egzogenne podanie zarówno hormonów (np. auksyna, cytokinina) jak i ich inhibitorów nie ratuje fenotypu korzenia i pędu mutantu *ftsh4* (P2). Wyniki uzyskane w trakcie projektu dowodzą, że w warunkach podwyższonej temperatury obecność funkcjonalnego genu *FTSH4* jest niezbędna do utrzymania tożsamości komórek inicjalnych i proliferacji w SAM (i RAM). Stwierdziłam ponadto, że mechanizmy zabezpieczające utrzymanie SAM (i RAM) mają kluczowe znaczenie dla niezakłóconego wzrostu, a tym samym przetrwania roślin w warunkach podwyższonej temperatury, indukującej akumulację wewnątrzkomórkowego stresu oksydacyjnego, czyli w warunkach będących zagrożeniem dla roślin w świetle obecnych tendencji związanych z globalnym ociepleniem klimatu.

Chociaż liczne prace koncentrują się na analizie odpowiedzi roślin na wzrost temperatury otoczenia, co między innymi wynika ze znaczenia tej problematyki i ogólnościowych implikacji globalnego ocieplenia, studiując literaturę przedmiotu zaobserwowałam ograniczenia w badaniach w tym zakresie. Stwierdziłam, że w szczególności utrzymanie SAM w warunkach podwyższonych temperatur było jak dotąd właściwie pomijane. Brak badań tego aspektu jest prawdopodobnie spowodowany technicznymi trudnościami przeprowadzenia tego typu eksperymentów, co wynika z niewielkich rozmiarów merystemu i z dostępności SAM pod najmłodszymi zawiązkami organów. Dodatkowo, najczęściej badanym etapem rozwojowym jest siewka, a późniejsze stadia ontogenetyczne są zwykle pomijane, prawdopodobnie z uwagi na fakt, iż wymagają większego nakładu pracy i kosztów oraz

są trudniejsze i podlegają większej zmienności związanej z warunkami środowiska podczas wzrostu. Studiując literaturę dotyczącą wpływu wysokich temperatur na *Arabidopsis*, stwierdziłam ponadto, że wyniki różnych badań nie są ze sobą w pełni porównywalne. Układy doświadczalne, w których publikowane wyniki zostały uzyskane, różnią się, utrudniając wnioskowanie na temat strategii regulacyjnych roślin. Biorąc pod uwagę powyższe aspekty podjęłam się opracowania komentarza (P3), w którym podkreśliłam problem porównywalności wyników z różnych układów eksperymentalnych wykorzystywanych w badaniach nad wpływem podwyższonej temperatury na wzrost *Arabidopsis*. Ponadto, zwróciłam uwagę na interesujący, ale do tej pory pomijany aspekt związany z koniecznością utrzymania merystemu wierzchołkowego pędu (SAM), będącego najważniejszą strukturą dla przetrwania i reprodukcji roślin. Komentarz (P3) łączy zagadnienia funkcjonowania SAM i odpowiedzi roślin na zmiany temperatury, stąd może być interesujący dla szerokiej społeczności naukowej.

Kolejnym moim osiągnięciem naukowym była identyfikacja wpływu stresu biotycznego, jakim jest infekcja roślin *Arabidopsis* przez fitopatogeniczną bakterię *Rhodococcus fascians*, na plastyczność merystematyczną. Moja współpraca z dr Danny Vereecke (University College, Ghent, Belgia) dotycząca badań nad *Rhodococcus* rozpoczęła się w 2004 r. Podczas stypendium Erasmus/Socrates (w trakcie studiów magisterskich) odbytego przeze mnie w ośrodku *VIB-UGent Center for Plant Systems Biology* (Belgia), realizowałam projekt badawczy "Towards the finalization of the sequence determination of the linear virulence plasmid of the phytopathogen *Rhodococcus fascians*". *Rhodococcus fascians* jest bakterią Gram-dodatnią, która stanowi dość powszechny czynnik infekujący szeroki zakres gatunków roślin i powoduje poważne straty w ogrodnictwie [22]. Interakcja między *R. fascians* i jego żywicielem indukuje szereg modyfikacji morfologicznych oraz zmiany fizjologiczne oraz hormonalne, niezbędne do skutecznego zakażenia [23-25]. Objawy infekcji obejmują również hiperplazję i hipertrofię komórkową a także tworzenie liściastych narośli tzw. *leafy galls*, które charakteryzują się powstawaniem licznych, w pełni zróżnicowanych organów bocznych. Powstawanie narośli odbywa się poprzez aktywację istniejących i formowanie *de novo* merystemów pędowych [26]. Pod tym względem infekcja *R. fascians* różni się od tej wywołanej przez innego, najlepiej poznanego przedstawiciela gram-dodatnich fitopatogenów, *Agrobacterium tumefaciens*, który indukuje powstawanie guzowatych narośli, w dużej mierze niezróżnicowanych (z ang. *crown galls*; [18,19]). Moje doświadczenie w biologii molekularnej roślin, zwłaszcza w odniesieniu do merystematycznego potencjału *Arabidopsis*, pozwoliło mi podjąć badania nad interakcją *R. fascians*-*Arabidopsis* w innym, niestosowanym wcześniej ujęciu. Zauważyłam bowiem, że tworzenie się narośli nie było analizowane pod kątem przeprogramowania potencjału merystematycznego roślin, stąd podjęłam badania w tym zakresie. Najczęściej stosowane protokoły inokulacji *Arabidopsis* bakterią *Rhodococcus* prowadzą do heterogennych fenotypów, których rozwój jest trudny do analizy. Wykorzystałam więc miejscową i nieinwazyjną punktową metodę inokulacji, w której kropla zawiesiny bakteryjnej *R. fascians* zostaje podana w pachwinie liści i/lub odgałęzień bocznych na kwiatostanie *Arabidopsis* [27]. Podczas mojej wizyty badawczej w Ghent w 2013r. udoskonaliłam protokół, znany z literatury, a następnie wykorzystałam go do infekcji dzikich roślin *Arabidopsis* i różnych linii transgenicznych, m.in. *pDR5:GUS* gdzie gen reporterowy *GUS* ulega ekspresji ze sztucznego promotora odpowiedzi auksynowej. Pierwsze analizy rozwoju infekcji w roślinie gospodarza (tworzenie się zawiązków pędowych *de novo*) pozwoliły mi wykazać, że merystematyczny potencjał *Arabidopsis* jest wykorzystywany przez fitopatogena do stworzenia specyficznej „niszy”, czyli właśnie narośli typu *leafy gall*, co wymaga zmiany aktywności merystemu bocznego, kambium. W związku z tym

szczegółowe badania w tym aspekcie były kontynuowane wspólnie z dr Alicją Banasiak jako specjalistką w zakresie waskularyzacji pędu. Ich celem było określenie genezy i struktury dodatkowych połączeń waskularnych w obrębie patologicznej tkanki, a także pomiędzy powstającymi naroślami i systemem przewodzącym pędu kwiatostanowego gospodarza. Wyniki eksperymentów pozwoliły stwierdzić, że w procesie powstawania tkanek przewodzących indukowanych infekcją można wyróżnić trzy etapy: (1) aktywacja kambium wiązkowego w głównym pędzie i odgałęzieniu bocznym, (2) odróżnicowanie się miękiszu parenchymatycznego w celu zapoczątkowania kambium międzywiązkowego, a co za tym idzie dodatkowych elementów przewodzących, oraz (3) ustanowienie w pełni rozwiniętego, aczkolwiek nieregularnego systemu tkanek przewodzących, który dochodzi do peryferycznych obszarów narośli i jest ciągły z systemem waskularnym pędu głównego. W celu identyfikacji możliwych mechanizmów leżących u podstaw zmian w potencjale merystematycznym komórek podczas tworzenia nowych połączeń waskularnych, wykorzystywanego przez bakterie *Rhodococcus*, skupiliśmy się również na modyfikacjach w odpowiedzi auksynowej podczas tworzenia się narośli. Takie podejście wynikało ze stwierdzonego przeze mnie faktu, na podstawie analizy literatury, że fitopatogeny, m.in. *R. fascians*, po infekcji zmieniają homeostazę auksynową żywiciela [np.18,19,25]. Zastosowana przez mnie metoda punktowej infekcji pozwoliła zbadać zmiany w odpowiedzi auksynowej zarówno przestrzennie, i co istotne, również czasowo w trakcie tworzenia się narośli *leafy galls*. Na podstawie przeprowadzonych badań udowodniłyśmy, że auksyna odgrywa kluczową rolę w początkowej fazie neowaskularyzacji powstającego *leafy gall*. Stwierdziłyśmy, że następuje wtedy przejściowy wzrost poziomu auksyny (pokazany dzięki zastosowaniu linii transgenicznych *Arabidopsis* z markerem odpowiedzi auksynowej *pDR5:GUS*), który zbieżny jest z aktywacją kambium wiązkowego i poprzedza tworzenie się kambium międzywiązkowego (pokazane za pomocą analiz anatomicznych i mikroskopii fluorescencyjnej). Po aktywacji ksylogenezy *de novo*, wzmocniona odpowiedź auksynowa zostaje utrzymana w samych tkankach systemu przewodzącego, umożliwiając ciągłe, dalsze różnicowanie waskularne w powiększającej się narośli. W efekcie badań wykazano, że waskularyzacja rosnącego *leafy gall* jest dobrze zorganizowanym i uporządkowanym procesem, w którym bakterie *Rhodococcus* korzystają z "regularnych" ścieżek sygnałnych żywiciela, obejmujących też merystematyczną plastyczność rośliny.

#### **Główne osiągnięcia cyklu habilitacyjnego:**

- dopracowanie protokołów i możliwa dzięki temu identyfikacja, określenie i opisanie zmian *in vivo* wewnętrznego stresu oksydacyjnego i funkcjonalności mitochondriów bezpośrednio w SAM u roślin dzikich i mutantów *ftsh4*;
  - udowodnienie, że gen *FTSH4* (kodujący proteazę mitochondrialną) pełni rolę ochronną w dwóch przeciwległych merystemach wierzchołkowych, SAM i RAM, w warunkach wzrostu roślin w umiarkowanej podwyższonej temperaturze;
  - udowodnienie bezpośrednio w SAM, że mitochondrialna proteaza FTSH4 jest niezbędna do przeciwdziałania stopniowej i zależnej od fazy rozwojowej wewnętrznej akumulacji stresu oksydacyjnego i dysfunkcji mitochondriów, a tym samym umożliwia utrzymanie tożsamości i prawidłową proliferację komórek inicjalnych w warunkach podwyższonej temperatury wzrostu;
  - wskazanie możliwości istnienia odmiennego sposobu działania genu *FTSH4* w SAM i RAM;
-



- zwrócenie uwagi na problem nieporównywalności danych eksperymentalnych i przedstawienie perspektyw przyszłych analiz nad samoodtworzeniem się SAM w badaniach nad wpływem podwyższonej temperatury na wzrost i funkcjonowanie roślin;
- udoskonalenie eksperymentalnej metody punktowej infekcji *R. fascians* pozwalającej na szczegółową analizę ontogenetycznej sekwencji zmian zachodzących podczas infekcji;
- wykazanie, że infekcja bakterią *R. fascians* powoduje u *Arabidopsis* aktywację istniejącego potencjału merystematycznego rośliny, prowadząc do rozwoju *leafy galls*.

---

## Podsumowanie

Prowadzone przeze mnie po doktoracie badania, stanowiące osiągnięcie naukowe, koncentrowały się na mechanizmach regulacji kluczowych procesów rozwojowych u *Arabidopsis*, modyfikowanych przez stresy środowiskowe, zarówno abiotyczne jak i biotyczne. Wyniki prowadzonych przeze mnie badań wykazały, że merystematyczna plastyczność umożliwia roślinom dostosowanie się do niekorzystnych warunków wzrostu (np. podwyższonej temperatury) dzięki obecności mechanizmów chroniących tożsamość SAM/RAM. Z drugiej jednak strony stwierdziłam, że patogenna bakteria *R. fascians* może wykorzystać tę merystematyczną plastyczność na swoją korzyść. Jakkolwiek moje wyniki nie obejmują całości rozległego obszaru oddziaływań abiotycznych/biotycznych na rośliny, są jednakże ważnym jego elementem i przyczyniają się do wskazania nowych obszarów badawczych w tej problematyce.

## Plany naukowe

W nadchodzących latach zamierzam kontynuować badania na poziomie molekularnym dotyczące mechanizmów utrzymania tożsamości komórek inicjalnych, szczególnie SAM, w odniesieniu do stresu środowiskowego (głównie wpływu podwyższonej temperatury). W planowanych przeze mnie przyszłych projektach będę szukała odpowiedzi na pytanie w jaki sposób dochodzi do dostosowania procesów wewnętrznych w obrębie merystemów tak aby zachować wymagane tempo wzrostu w niekorzystnych warunkach zmiany temperatury. Skupię się głównie na identyfikacji mechanizmów regulacji hormonalnej i genetycznej utrzymania SAM u *Arabidopsis*.

Chciałabym podkreślić, iż mam nadzieję, że moje dotychczasowe doświadczenia badawcze oraz osiągnięcia naukowe pozwolą mi rozszerzyć zakres planowanych badań na inne rośliny, w tym gatunki o dużym znaczeniu gospodarczym. Aby realizować obrany cel aplikowałam o stypendium Fulbrighta, po uzyskaniu którego będę miała możliwość prowadzić analizy związane z funkcjonowaniem SAM u *Solanum lycopersicum* (pomidora) w laboratorium profesor Neelimy Sinha w Zakładzie Biologii Uniwersytetu Kalifornijskiego, UC Davis (USA). Ośrodek ten jest głównym centrum badań genetycznych nad pomidorami, które są dobrymi organizmami modelowymi w zakresie badań podstawowych i stosowanych. Projekt ten pozwoli mi rozszerzyć zestaw technik eksperymentalnych oraz podjąć badania w nowym obszarze tematycznym.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

---

### a. Dorobek naukowy

Poza głównym nurtem badawczym (omówionym powyżej), który stanowi cykl habilitacyjny, byłam i/lub jestem zaangażowana w inne zespołowe projekty badawcze, obejmujące różne obszary szeroko rozumianej biologii rozwoju roślin i mikrobiologii. Te dodatkowe działania naukowe zaowocowały opublikowaniem do tej pory siedmiu prac oryginalnych, w tym jednego rozdziału w monografii i jednej pracy przeglądowej. Wszystkie te publikacje są angielskojęzyczne, recenzowane i oprócz rozdziału w monografii zostały opublikowane w czasopiśmie indeksowanym w Journal Citation Reports (JCR). Sumaryczny Impact Factor tych prac, zgodny z rokiem opublikowania (bez prac stanowiących omówione wyżej osiągnięcia naukowe), wynosi 25.253, a suma punktów zgodnie z aktualnym systemem punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MSHE) (wg listy z dnia 9 grudnia 2016 r.) wynosi 200. Prace w moim dorobku dotyczą głównie trzech aspektów: *Mikrobiologii molekularnej*, *Funkcjonowania merystemów wierzchołkowych* oraz *Zjawisk rozwojowych u przedstawicieli wybranych grup roślin: Magnolia i Lycopodium*. Można tu znaleźć artykuły opublikowane we współpracy z: University College, Ghent (Belgia), University of Freiburg (Niemcy), Uniwersytetem Jana Długosza w Częstochowie (Polska), Instytutem Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu (Polska).

### Inne prace naukowe nie związane z cyklem habilitacyjnym:

1. Jakimowicz D., Brzostek A., Rumijowska-Galewicz A., Zydek P., **Dolzblasz A.**, Smulczyk-Krawczyszyn A., Zimniak T., Wojtasz L., Zawilak-Pawlik A., Kois A., Dziadek J., Zakrzewska-Czerwińska J.\* Characterization of the mycobacterial chromosome segregation protein ParB and identification of its target in *Mycobacterium smegmatis*. *Microbiology (SGM)* (2007) 153:4050-60 (IF 2.96; MSHC 25). \* autor korespondencyjny
2. Graf P.<sup>1</sup>, **Dolzblasz A.**<sup>1</sup>, Würschum T., Lenhard M., Pfreundt U., Laux T.\* MGO1 encodes an Arabidopsis typeIB DNA topoisomerase required in stem cell regulation and to maintain developmentally regulated gene silencing. *The Plant Cell* (2010) 22: 716–728 (IF 9.396; MSHE 45). <sup>1</sup> **wspólne pierwsze autorstwo w pracy.** \* autor korespondencyjny
3. Stes E., Francis I., Pertry I., **Dolzblasz A.**, Depuydt S., Vereecke D.\* The leafy gall syndrome induced by *Rhodococcus fascians*. *FEMS Microbiol Lett.* (2013) 342(2):187-95 (IF 2.214; MSHE 20). \* autor korespondencyjny
4. Gola E.M.\*, **Dolzblasz A.**, Otręba P., Śliwińska-Wyrzychowska A. Development of abnormal strobili in *Lycopodium annotinum* as an example of the reversion phenomenon in lower vascular plants. *Botany* (2015) 93:701–707 (IF 1.324; MSHE 25). \* autor korespondencyjny
5. Wróblewska M., **Dolzblasz A.**\*, Zagórska-Marek B. The role of ABC genes in shaping perianth phenotype in the basal angiosperm Magnolia. *Plant Biol (Stuttg)*. (2016) 18(2): 230-8 (IF 2.216; MSHE 35). \* autor korespondencyjny
6. **Dolzblasz A.**\*, Nardmann J., Clerici E., Causier B., van der Graaff E., Chen J., Davies B., Werr W., Laux T.\* Stem cell regulation by Arabidopsis WOX genes. *Mol Plant*. (2016) 9(7): 1028-1039 (IF 7.143; MSHE 45). \* autor korespondencyjny
7. **Dolzblasz A.**, Myskow E., Gola E.M.\* Meristems of seedless vascular plants: the state of the art. *Current Advances in Fern Research* (2018), H. Fernandez (ed.), doi:10.1007/978-3-319-75103-0. \* autor korespondencyjny

## Mikrobiologia molekularna

---

Jakimowicz D., Brzostek A., Rumijowska-Galewicz A., Zydek P., **Dolzbłasz A.**, Smulczyk-Krawczyszyn A., Zimniak T., Wojtasz L., Zawilak-Pawlik A., Kois A., Dziadek J., Zakrzewska-Czerwińska J.\* Characterization of the mycobacterial chromosome segregation protein ParB and identification of its target in *Mycobacterium smegmatis*. *Microbiology (SGM)* (2007) 153:4050-60 (IF 2.96; MSHE 25).  
\* autor korespondencyjny.

Stes E., Francis I., Pertry I., **Dolzbłasz A.**, Depuydt S., Vereecke D.\* The leafy gall syndrome induced by *Rhodococcus fascians*. *FEMS Microbiol Lett.* (2013) 342(2):187-95 (IF 2,214; MSHE 20).  
\* autor korespondencyjny.

Moje badania w zakresie mikrobiologii molekularnej rozpocząłam już w trakcie studiów magisterskich na kierunku Biotechnologia na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu (wcześniej Akademia Rolnicza we Wrocławiu). Jako specjalizację wybrałam mikrobiologię molekularną i w jej ramach wykonałam dwa projekty badawcze związane z bakteriami z rodzaju Actinobacteria, tj. *Mycobacterium smegmatis* i *Rhodococcus fascians*. Actinobacteria są interesującą grupą bakterii, która podlega szeroko zakrojonym badaniom pod kątem możliwych do zastosowania metabolitów i antybiotyków oraz mechanizmów ich patogenności w odniesieniu zarówno do ludzi jak i roślin (patrz artykuły cytowane w Stes i wsp., 2013).

Podczas studiów, jako projekt magisterski, zdecydowałam się na pracę z *Mycobacterium* w Zakładzie Mikrobiologii Molekularnej w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu pod kierunkiem profesor Jolanty Zakrzewskiej-Czerwińskiej. *Mycobacterium tuberculosis* [28,29] jest czynnikiem bakteryjnym wywołującym gruźlicę (z łac. *tuberculosis*, TB), którego unikalną cechą jest zdolność do utrzymywania stanu uśpionego, niereplikującego, aby przetrwać niekorzystne warunki otoczenia. *M. tuberculosis* jest silnie patogenną bakterią, dlatego też w celu analizy mechanizmu segregacji chromosomów, ważnego procesu dla zrozumienia przejść między stadiami aktywności i uśpiania, wykorzystaliśmy inny przydatny, organizm modelowy, którym jest niepatogenny, saprofityczny, "szybko rosnący" gatunek *M. smegmatis*. W omawianym projekcie skoncentrowaliśmy się na analizach funkcjonalnych genów *ParAB*, tj. wzorze ekspresji *ParA* i *ParB*, fenotypie linii z nadekspresją *ParB* i mutantu *parB* oraz zdolności wiązania białka ParB z sekwencjami docelowymi *parS*, kluczowymi dla segregacji chromosomów. Udowodniliśmy, że u *M. smegmatis* zmiany w ekspresji *ParB* silnie wpływają na funkcjonowanie bakterii i pokazaliśmy, jak ParB łączy się z sekwencją docelową *parS* (Jakimowicz i wsp., 2007). W trakcie projektu osobiście uczestniczyłam w pracach eksperymentalnych, które obejmowały analizy RNA i testy EMSA.

W trakcie studiów magisterskich jeden semestr spędziłam na Uniwersytecie w Ghent w Belgii (w ramach programu Erasmus/Socrates). W tym czasie uczestniczyłam w projekcie badawczym pod opieką dr Danny Vereecke prowadzonym w ośrodku *VIB-UGent Center for Plant Systems Biology*, w części zakładu *Department of Plant-Microbe Interactions*, kierowanym przez profesora Koena Goethalsa, specjalizującego się w fitopatogenicznej bakterii *Rhodococcus fascians*. Współpraca z dr Danny Vereecke jest kontynuowana także obecnie (praca z cyklu habilitacyjnego P3), a jej pierwszym efektem publikacyjnym była wspólna praca przeglądowa (Stes i wsp., 2013). Opisuje ona powszechnie występującego patogena roślinnego, bakterię *R. fascians*, powodującą powstawanie specyficznych narośli

liściowych tzw. *leafy galls*. Przedstawiony w pracy fenotyp rośliny gospodarza, wywołany przez *R. fascians*, obejmuje tworzenie bardziej krzaczastego pokroju rośliny, utratę dominacji wierzchołkowej, opóźnione starzenie, aktywację uśpionych merystemów pachwinowych, i tworzenie nowych na pędach kwiatostanowych oraz tworzenie się narośli liściowych. W pracy przeglądowej szczegółowo opisano również strategię stosowaną przez patogenny szczep D188 *R. fascians*. Nacisk położono na elementy liniowego plazmidu wirulencji, pFiD188, niezbędne dla przeprowadzenia skutecznej infekcji. Przedstawiono mechanizm autoregulacyjny, w którym pośredniczy operon *att* indukujący patogeniczność bakterii oraz geny kodowane przez operon *fas* związane z biosyntezą cytokinin, które wpływają na wzrost i rozwój roślin. Dodatkowo, *R. fascians* wywołuje specyficzną odpowiedź u roślin, taką jak stymulowane cytokininą wytwarzanie auksyny, która pomaga w powstawaniu objawów infekcji, oraz indukowanie mechanizmów roślinnych przeciwdziałających infekcji, jak wytwarzanie poliamin (Stes i wsp., 2013). W trakcie przygotowywania pracy przeglądowej brałam udział w analizie i przeglądzie literatury oraz przygotowywaniu całego manuskryptu.

#### Główne osiągnięcia projektów:

- Pierwsza charakterystyka kluczowych elementów (białka ParAB i sekwencja *parS*) mechanizmu segregacji chromosomów u *Mycobacterium*
- Szczegółowy opis obecnego stanu wiedzy na temat interakcji *R. fascians*-*Arabidopsis*

### **Funkcjonowanie merystemów wierzchołkowych**

---

Graf P.<sup>1</sup>, Dolzblasz A.<sup>1</sup>, Würschum T., Lenhard M., Pfreundt U., Laux T.\* MGO1 encodes an Arabidopsis typeB DNA topoisomerase required in stem cell regulation and to maintain developmentally regulated gene silencing. *The Plant Cell* (2010) 22: 716–728 (IF 9.4; MSHE 45).

<sup>1</sup> równocenne pierwsze autorstwo w pracy. \* autor korespondencyjny.

Dolzblasz A.\*, Nardmann J., Clerici E., Causier B., van der Graaff E., Chen J., Davies B., Werr W., Laux T.\* Stem cell regulation by Arabidopsis WOX genes. *Mol Plant*. (2016) 9(7); 1028-1039 (IF 7.143; MSHE 45). \* autor korespondencyjny.

Dolzblasz A., Myskow E., Gola EM.\* Meristems of seedless vascular plants: the state of the art. *Current Advances in Fern Research* (2018), H. Fernandez (ed.), \* autor korespondencyjny.

Kolejny istotny obszar problemowy podejmowanych przeze mnie badań związany jest funkcjonalną charakterystyką genów w nawiązaniu do merystemów wierzchołkowych pędu (SAM). Moje zainteresowanie tematyką roślinną w dużej mierze wynika z udziału w stypendium Sokrates/Erasmus w Belgii (2004 r.), podczas którego dołączyłam do *VIB-UGhent Center for Plant Systems Biology* związanego z badaniami nad biologią roślin i uczestniczyłam w seminariach naukowych oraz innych działaniach związanych z biologią molekularną roślin. Zainspirowana tym, po ukończeniu studiów, zdecydowałam się na podjęcie badań w ramach pracy doktorskiej w Zakładzie Biologii Rozwoju i Biotechnologii Roślin na Uniwersytecie we Freiburgu (Niemcy) pod opieką profesora Thomasa Laux jako promotora pracy. Ten wybór ukierunkował moje zainteresowania naukowe na zagadnienia związane z biologią molekularną roślin (widoczne również w moim głównym osiągnięciu naukowym), a w szczególności na funkcjonowanie merystemu wierzchołkowego pędu (SAM).

Badania w ramach doktoratu prowadziłam z wykorzystaniem modelowej rośliny *Arabidopsis*. Miały one na celu analizę mechanizmów umożliwiających utrzymywanie

merystemu wierzchołkowego pędu (SAM), czyli struktury niezbędnej dla przeżycia roślin, w której zlokalizowane są komórki inicjalne. *WUSCHEL* (*WUS*) to kluczowy regulator utrzymania funkcjonowania SAM, który ulega ekspresji w centralnych komórkach macierzystych (z ang. *organizing center*, *OC*) i pozytywnie reguluje leżące nad nimi komórki inicjalne. Brak aktywności genu *WUS* powoduje przedwczesne zahamowanie funkcjonowania SAM i powstawanie nieregularnych rozet liściowych u mutantów, ponieważ wytwarzane *de novo* komórki inicjalne są zużywane [30]. W celu określenia genetycznej podstawy powstawania fenotypu zahamowania wzrostu SAM wywołanego brakiem funkcjonalnego genu *WUS* zastosowaliśmy podejście „forward genetics”, aby zidentyfikować dodatkowe geny, niezbędne dla utrzymania merystematycznego charakteru SAM. Wykorzystaliśmy dostępne w Zakładzie linie hipomorficznego mutantów *wus6* i z nadekspresją genu *WUS* do wykonania dwóch niezależnych mutagenez z zastosowaniem metanosulfonianu etylu (EMS). Wyselekcjonowane zostały mutanty o ciekawych fenotypach: wzmocnionym fenotypie hipomorficznego mutantów *wus6* i supresją fenotypu nadekspresji. Mapowanie genetyczne wykazało, że oba fenotypy są wynikiem mutacji w genie pozbawionym aktywności topoizomerazy IB *MGO1* (*MGO1*). Następnie scharakteryzowano funkcjonalnie *MGO1* pod kątem jego roli w SAM i interakcji z genem *WUS* stosując różne techniki histologiczne i molekularne. Szczegółowe analizy wykazały, że *MGO1* współdziała zarówno z *WUS* jak i genami związanymi z regulacją organizacji chromatyny, decydując o losie komórek i wzorze ekspresji genów w SAM podczas rozwoju. Nasze wyniki pozwoliły postawić hipotezę, że funkcje *WUS* i *MGO1* zbiegają się na wspólnej ścieżce w późniejszym etapie kaskady sygnalizacyjnej. Może być to związane ze zmianami w chromatynie podczas regulacji poziomu ekspresji genów docelowych przez *WUS* i/lub z przeciwdziałaniem stochastycznym zmianom w celu stabilizacji wzorów ekspresji genów regulowanych rozwojowo. Osobiście brałam aktywny udział w eksperymentach związanych z analizą fenotypową mutantów, wizualizacją genów reporterowych GUS, mikroskopią konfokalną, hybrydyzacją *in situ* genu *MGO1* i qRT-PCR. Brałam też udział w pisaniu artykułu. Warto podkreślić, że jestem jednym z pierwszych autorów (równocenne autorstwo) w tej pracy.

*WUS* to gen, dzięki któremu zidentyfikowano rodzinę genów *WOX* (*WUSCHEL-HOMEOBOX GENES*; *WUS* i *WOX1-14*), występujących u przedstawicieli wszystkich roślin naczyniowych, a nawet w zielenicach [31,32]. Geny z tej rodziny, które są czynnikami transkrypcyjnymi charakteryzującymi się obecnością homeodomeny wiążącej DNA, można podzielić na trzy kłady: najstarszy kład *WOX13* i dwa pochodne kłady, *WOX9* i *WUS*. Każdy kład charakteryzuje się obecnością określonych domen funkcjonalnych. Na przykład geny klądu *WUS* (geny *WUS* i *WOX1-7*) cechuje zmienne występowanie trzech domen funkcjonalnych na C-końcu: domeny kwaśnych aminokwasów (z ang. *acidic domain*), *WUS-box* i domeny *EAR*. W projekcie, który został zapoczątkowany w trakcie doktoratu w Zakładzie profesora T. Laux, stworzono serię roślin transgeniczných, w których zastosowano system transaktywacyjny pOp/LhG4 [33]. Porównaliśmy zdolność do funkcjonalnego zastąpienia genu *WUS* i/lub *WOX8* przez poszczególne geny z rodziny *WOX* oraz geny z delecjami (lub ze zmianami w sekwencji DNA) poszczególnych domen funkcjonalnych, które ulegały ekspresji z promotora genu *WUS* lub *WOX9*. Umożliwiło to analizę funkcjonalnego zróżnicowania genów z rodziny *WOX* i pokazało, które domeny funkcjonalne są odpowiedzialne za merystematyczną funkcję genu *WUS* i oddziaływanie *WUS* z białkami *TPL* (*TOPLESS*) i *TPR* (*TOPLESS RELATED*) w aspekcie utrzymania SAM. Wykazaliśmy, że tylko geny z klądu *WUS*, oprócz *WOX4*, z różną siłą mogą funkcjonalnie zastąpić gen *WUS* w merystemie, do czego niezbędna jest obecność domeny *WUS-box*. Dodatkowo,

pokazaliśmy że domena kwaśnych aminokwasów jest niezbędna dla płodności żeńskiej, podczas gdy domena EAR jest w większości zbędna oraz że fenotyp w poszczególnych stadiach rozwojowych ratowany jest w różnym stopniu. Wykazaliśmy, że geny z innych kładów (jak gen *WOX8*), charakteryzują się niekanoniczną sekwencją domeny WUS-box (tj. silnie zmienioną w porównaniu do *WUS*) i dlatego nie jest zaskakujące, że nie były w stanie funkcjonalnie zastąpić *WUS* w merystemie mutantu *wus1*. Wprowadzenie zmiany w genie *WOX8*, powodującej obecność kanonicznej sekwencji domeny WUS-box, nie jest wystarczające, aby zapewnić funkcję merystematyczną genowi *WOX8*, podobną do tej jaką posiada gen *WUS*. Dodatkowo homeodomeny między genami *WUS* i *WOX8* mogą być wymieniane. Uzyskane wyniki sugerują istnienie dodatkowych, ciągle niepoznanych domen funkcjonalnych w obrębie genu *WUS*. Dodatkowo, niekanoniczna w swojej sekwencji domena WUS-box genu *WOX8* jest zbędna także dla swoistej funkcji *WOX8* podczas embriogenezy. W trakcie projektu uczestniczyłam w klonowaniu i tworzeniu roślin transgenicznych, analizach fenotypowych i genotypowych, RT-PCR, analizach genów reporterowych *GUS*. Brałam ponadto udział w tworzeniu koncepcji artykułu i jego opracowaniu. Podkreślić należy, że jestem pierwszym autorem oraz również jednym z autorów korespondencyjnych w tej publikacji.

Moja doświadczenia badawcze w zakresie regulacji SAM pod kątem molekularnym zaowocowało współpracą w Zakładzie Biologii Rozwoju Roślin UW r z dr hab. Edytą Gołą, która specjalizuje się w rozwoju niższych roślin waskularnych i merystemach oraz dr Elżbietą Myśkow, specjalizującą się w budowie wtórnej roślin. Efektem współpracy jest rozdział napisany w renomowanej cyklicznej monografii pt. "*Current Advances in Fern Research*". W rozdziale tym zebraliśmy wiedzę, od poziomu morfologicznego do genetycznego, o różnych merystemach wczesnych roślin waskularnych (tj. widłaków i paproci). Moim głównym wkładem do tej publikacji było zebranie dotychczasowej wiedzy z zakresu możliwych mechanizmów regulacyjnych aktywność merystemów na poziomie genetycznym. Ponadto brałam udział w tworzeniu koncepcji rozdziału i jego opracowaniu.

#### Główne osiągnięcia projektów:

- wykazanie na poziomie genetycznym, że topoizomeraza IB *MGOUN1* (*MGO1*) współdziała wraz z genem *WUS* w utrzymaniu komórek inicjalnych i tym samym zidentyfikowanie dodatkowego regulatora prawidłowego funkcjonowania SAM - genu *MGO1*;
- wykazanie, dzięki funkcjonalnej charakterystyce genu *MGO1*, związku między utrzymywaniem w trakcie rozwoju rośliny puli komórek inicjalnych w obrębie SAM a mechanizmami odpowiedzialnymi za modulację chromatyny oraz wykazanie, że gen *MGO1* jest niezbędny dla utrzymania odpowiednich stanów epigenetycznych komórek;
- udowodnienie, że gen *WUS* może być funkcjonalnie zastąpiony w swojej roli merystematycznej tylko przez geny kładu WUS i że niezbędna do tego procesu jest obecność kanonicznej sekwencji domeny WUS-box;
- udowodnienie, że kombinacja kompatybilnej homeodomeny i kanoniczna sekwencja domeny WUS-box jest niewystarczająca do zapewnienia merystematycznej aktywności genom kładu *WOX9* (tj. *WOX8*), co sugeruje, że specyficzne oddziaływanie z genami docelowymi przez gen *WUS* jest ustalane poza sekwencją wiążącą DNA homeodomeny;
- opracowanie eksperymentalnego tła dla hipotezy o istnieniu innych domen funkcjonalnych w obrębie sekwencji genu *WUS* i dla hipotezy że merystematyczna funkcja genów kładu WUS jest cechą nabytą podczas ewolucji oraz, że modyfikacje w sekwencji

w genach rodziny WOX są związane z powstawaniem w toku ewolucji komórek inicjalnych w różnych niszach merystematycznych;

- opracowanie szczegółowych informacji, wcześniej rozproszonych i fragmentarycznych, o regulacji genetycznej różnych merystemów wczesnych roślin naczyniowych.

## **Zjawiska rozwojowe u przedstawicieli wybranych grup roślin: *Magnolia* i *Lycopodium***

---

Wróblewska M., **Dolzblasz A.\***, Zagórska-Marek B. The role of ABC genes in shaping perianth phenotype in the basal angiosperm *Magnolia*. *Plant Biol (Stuttg)*. (2016) 18(2): 230-8 (IF 2.63; MSHE 35). \* autor korespondencyjny.

Gola E.M.\*, **Dolzblasz A.**, Otręba P., Śliwińska-Wyrzychowska A. Developmental strobili in *Lycopodium annotinum* as an example of the reversion phenomenon in lower vascular plants. *Botany* (2015) 93: 701–707 (IF 1.324; MSHE 25). \* autor korespondencyjny.

Kolejnym nurtem moich badań są zagadnienia związane z ciekawymi zjawiskami rozwojowymi w aspekcie ich genetycznej regulacji. Zainteresowanie to wynika z rozpoczęcia pracy naukowej w Zakładzie Biologii Rozwoju Roślin UW, kierowanego przez profesor Beatę Zagórską-Marek, gdzie zainspirowana rozmowami z profesorem Zagórską-Marek i dr hab. Edytą Golą wzięłam udział w projektach badawczych związanych odpowiednio z kwiatami *Magnolia* i kłosami zarodnikowymi *Lycopodium*.

Organy kwiatowe powstają dzięki merystemom kwiatowym, które są pochodną merystemu wierzchołkowego pędu (SAM). Na poziomie genetycznym, tożsamość elementów kwiatu jest wynikiem czasowo-przestrzennie regulowanej ekspresji genów ABC. Upraszczając, klasyczny model ABC dla *Arabidopsis* zakłada, że działki kielicha powstają w wyniku aktywności samych genów klasy A (geny *APETALA1* i *2*), płatki współdziałania genów klasy A i B (geny *APETALA3* i *PISTILLATA*), pręciki dzięki aktywności genów klasy B i C (gen *AGAMOUS*), a słupki w skutek aktywności samych genów klasy C. Jednakże, powszechnie wiadomo że w świecie roślin funkcjonują różne modyfikacje klasycznego modelu ABC [34,35]. Typowy kwiat magnolii charakteryzuje się okwiatem zbudowanym z trzech okółków, którego elementy (tzw. tepale) są niezróżnicowane, natomiast elementy generatywne, liczne pręciki i słupki, są spiralnie ułożone na wydłużonej osi kwiatowej. Tworzenie niezróżnicowanych tepali, zamiast różnicowania okwiatu na działki i płatki, jest wynikiem przesunięcia granicy ekspresji genów klasy B na najbardziej zewnętrzny okółek („*sliding boundary*” wariant modelu ABC), co zostało udowodnione eksperymentalnie [36]. Profesora Beata Zagórska-Marek zaobserwowała dwa ciekawe zjawiska dotyczące fenotypu kwiatów u trzech gatunków *Magnolia* (*M. acuminata*, *M. liliiflora* i *M. stellata*), tj. obecność odrębnego morfologicznie najbardziej skrajnego okółka okwiatu, a u *M. stellata* dodatkowo występowanie nadliczbowych, spiralnie ułożonych tepali powstałych w domenie, gdzie zwykle występują pręciki (zjawisko tzw. petalodii). Oba te zjawiska zostały następnie eksperymentalnie zbadane w trakcie studiów doktoranckich przez Magdalenę Wróblewską pod kierownictwem prof. Beaty Zagórskiej-Marek i zaowocowały pracą doktorską, której byłam promotorem pomocniczym. W projekcie tym dowiedziono (Wróblewska i wsp., 2016) na poziomie morfologicznym, anatomicznym i genetycznym, że wbrew panującemu powszechnie pogładowi o niezróżnicowanym okwiecie wymienione wyżej trzy gatunki *Magnolia* charakteryzują się zróżnicowanym okwiatem. Fenotyp ten jest wynikiem braku ekspresji genów klasy B w najbardziej zewnętrznym okółku.

Ze względu na odmienną tożsamość genetyczną elementów okwiatu u tych gatunków udowodniłyśmy, że należy posługiwać się terminami „płatki i działki kielicha” podczas opisu morfologii kwiatu. Ponadto pokazałyśmy, że mechanizmem wyjaśniającym powstawanie petalodii u *M. stellata* jest modyfikacja wariantu „fading borders” modelu ABC. Wykazałyśmy, że dochodzi do wygaszania ekspresji genów okwiatowych w domenie pręcikowia. Jednakże w przeciwieństwie do klasycznego wariantu "fading borders" modelu ABC, u *M. stellata* dodatkowe płatki, mimo ich spiralnego ułożenia, są identyczne morfologicznie i w pełni przypominają typowe płatki ulokowane w okółkach (Wróblewska i wsp., 2016). Nasze badania wskazują na dużą zmienność w obrębie rodzaju *Magnolia* oraz pokazują, że zróżnicowany okwiat i petalodia, czyli cechy bardziej zaawansowane ewolucyjnie, pojawiły się kilkakrotnie, niezależnie w różnych liniach kwiatowych. Ponadto, nasze eksperymenty umożliwiły zaproponowanie molekularnego mechanizmu powstawania morfologicznie odrębnych organów kwiatowych u trzech gatunków *Magnolia*, a moje doświadczenie w badaniach genetycznych umożliwiło prowadzenie badań na poziomie molekularnym. Brałam też aktywny udział podczas pisania publikacji i jestem również autorem korespondencyjnym w tej pracy.

Ważnym aspektem związanym z funkcjonowaniem SAM u przedstawiciela niższych roślin waskularnych *Lycopodium annotinum* jest tworzenie struktur służących rozmnażaniu czyli kłosów zarodnionośnych (strobili). Zazwyczaj w rodzaju *Lycopodium* proces tworzenia strobili jest związany ze zmianą tożsamości merystemu wierzchołkowego pędu z wegetatywnego na reprodukcyjny, co hamuje wzrost osi (zdeteminowany wzrost kłosów zarodnionośnych) [37]. W efekcie naszych badań wykazaliśmy, że sporadycznie szczytowa część strobili zachowuje aktywność podziałową i przywraca wzrost wierzchołka, tworząc odmienną strukturę kłosa (Gola i wsp., 2015). W trakcie trwania projektu przeanalizowano typowe i nietypowe strobile na poziomie anatomicznym i genetycznym, aby lepiej zrozumieć regulację sporogenezy u widłaków. Moja rola w tym projekcie polegała na jednoznacznym potwierdzeniu tożsamości wegetatywnej vs. sporogennej atypowego kłosa poprzez analizę ekspresji znanych z literatury genów markerowych. Wcześniejsze analizy anatomiczne wykazały, że w dolnej części kłosa tworzą się sporofile zawierające zarodnie, a w apikalnej, proliferującej części tworzą się wegetatywne mikrofile (trofofile). Analiza ekspresji genów *LAMB1* [38] oraz *LAMB2* [39] (RT-PCR) potwierdziły wegetatywny charakter najbardziej apikalnie położonej, proliferującej części kłosa i sporogenną tożsamość części bazalnej, zarodnionośnej. Nasze badania genetycznie po raz pierwszy dowiodły u widłaków, przedstawicieli niższych roślin waskularnych, istnienia zjawiska rewersji, czyli wznowienia wzrostu wegetatywnego pędu po wytworzeniu struktur służących rozmnażaniu. Ponadto pokazało analogie odnośnie sporogenezy do regulacji tego procesu u roślin okrytozalążkowych (Gola i wsp., 2015).

#### Główne osiągnięcia projektów:

- opracowanie na poziomie genetycznym mechanizmu powstawania zróżnicowanego okwiatu u *Magnolia acuminata*, *M. liliiflora* i *M. stellata* oraz mechanizmu powstawania zjawiska petalodii u *M. stellata*;
- opracowanie na poziomie genetycznym mechanizmu powstawania zjawiska rewersji u przedstawiciela niższych roślin waskularnych, *Lycopodium annotinum*.



Oprócz wymienionych i opisanych wyżej prac oryginalnych, przeglądowych oraz opracowania monograficznego, wyniki moich badań były prezentowane na konferencjach krajowych i zagranicznych w formie wystąpień ustnych i posterowych (13 doniesień konferencyjnych). Angażując się w pracę na rzecz środowiska naukowego współpracuję również z czasopismami naukowymi. Wykonałam recenzje artykułów dla czasopism krajowych i międzynarodowych, tj. dla *American Journal of Botany*, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, *Acta Physiologiae Plantarum* i *International Journal of Engineering Sciences*.

Co ważne, podczas mojej pracy na Uniwersytecie Wrocławskim otrzymałam grant badawczy SONATA (2013-2016) finansowany przez Narodowe Centrum Nauki (NCN) na realizację projektu pt. „Mechanizmy zahamowania rozwoju merystemu apikalnego pędu u mutantu *ftsh4 Arabidopsis thaliana* w odpowiedzi na zewnętrzny stres środowiskowy”. Projekt ten umożliwił mi przeprowadzenie analiz łączących metodologię z zakresu anatomii, biologii komórki, biologii molekularnej i biochemii oraz przyczynił się do zapewnienia sprzętu na potrzeby badań genetycznych w moim zakładzie.

Ponadto, obecnie jestem wykonawcą w granie OPUS, finansowanym przez NCN, pt.; „Sygnalizacja auksynowa i funkcja genów *AtHB8* i *MP/ARF5* w tworzeniu połączeń waskularnych podczas organogenezy u *Arabidopsis thaliana*”, którego kierownikiem jest dr Alicja Banasiak z Zakładu Biologii Rozwoju Roślin UWr.

Dodatkowo, dzięki moim wynikom naukowym, w 2017 roku otrzymałam nagrodę Rektora (Uniwersytet Wrocławski) za wybitne osiągnięcia badawcze.

### Podsumowanie liczbowe aktywności naukowej

Typ publikacji	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem		
			Liczba	IF	Punkty MNiSW
<b>Prace oryginalne</b>					
<b>Prace stanowiące osiągnięcie naukowe</b>					
W czasopismach z bazy JCR	-	4	4	13,04	130
<b>Razem</b>	-	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>13,04</b>	<b>130</b>
<b>Pozostałe prace (bez cyklu habilitacyjnego)</b>					
W czasopismach z bazy JCR	2	4	6	25,253	195
Rozdziały w monografiach	-	1	1	-	5
<b>Razem</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>25,253</b>	<b>200</b>
<b>CAŁOŚĆ DOROBKU</b>	<b>2</b>	<b>9</b>	<b>11</b>	<b>38,293</b>	<b>330</b>
Doniesienia konferencyjne krajowe i międzynarodowe (prezentacje ustne i plakatowe)	Przed doktoratem		Po doktoracie		Razem
	<b>2</b>		<b>11</b>		<b>13</b>

Impact Factor (IF) podano zgodnie z rokiem publikacji pracy; punkty MNiSW wg listy z dn. 9 grudnia 2016r.

Sumaryczny Impact Factor wg listy Journal Citation Reports (JCR) dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wynosi: **13,04**

Sumaryczna liczba punktów wg MNiSW dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wynosi: **130**

Sumaryczny Impact Factor wg listy Journal Citation Reports (JCR) dla prac pozostałych (poza cyklem prac habilitacyjnych) wynosi: **25,253**

Sumaryczna liczba punktów wg MNiSW dla prac pozostałych (poza cyklem prac habilitacyjnych) wynosi: **200**

Liczba cytowań wg Web of Science: **126**, Liczba cytowań (bez autocytowań): **123**

Indeks Hirscha wg Web of Science: **5**

#### *b. Dorobek dydaktyczny i organizacyjny*

---

Działalność dydaktyczna stanowi istotną część mojej aktywności zawodowej. Już podczas mojego zatrudnienia na Uniwersytecie we Freiburgu prowadziłem kursy laboratoryjne: *Genetyka roślin* i *Biologia molekularna roślin*. Od momentu zatrudnienia na stanowisku adiunkta w Zakładzie Biologii Rozwoju Roślin UW. prowadziłam zajęcia dydaktyczne dla studentów studiów stacjonarnych na kierunkach Biologia oraz Genetyka i biologia eksperymentalna (GiBE), na Wydziale Nauk Biologicznych, z przedmiotów, m.in: *Biologia komórki roślinnej*, *Język angielski w biologii*, *Biologia molekularna*, *Techniki badawcze w biologii komórki*, *Genetyczno-molekularne podstawy rozwoju roślin*. Zaproponowałam także i prowadzę autorskie zajęcia fakultatywne dla studentów na kierunku GiBE: *Advanced techniques in plant developmental research* (prowadzony w języku angielskim) oraz jestem też współautorką przedmiotów: *Wybrane zagadnienia z interakcji roślin i mikroorganizmów*, *Układy symbiotyczne organizmów prokariotycznych i roślin*, *Rośliny (w) przyszłości*. Prowadzę również kursy dla studentów innych wydziałów na kierunkach *Chemia i Biotechnologia*, w tym, co ważne, wykłady i laboratoria w języku angielskim dla nowo powstałego programu studiów *Biotechnology* (studia w języku angielskim).

Podczas mojej pracy na stanowisku adiunkta byłam opiekunką naukową (promotorem pomocniczym) słuchaczki studiów doktoranckich, kierowałam dwoma pracami magisterskimi i trzema pracami licencjackimi. Ponadto recenzowałam prace dyplomowe dwóch studentów.

W ramach promocji Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego, a szczególnie jego botanicznych aspektów, kilkakrotnie brałam udział w popularyzujących naukę zajęciach różnego rodzaju, tj. laboratoriach, warsztatach i wystawach, w ramach programów: *Mój Pierwszy Uniwersytet*, *Dolnośląski Festiwal Nauki*, *Noc Biologów*, Międzynarodowy Dzień Roślin (*Fascination of Plants Day*), a także uczestniczyłam w prowadzeniu kursu doszkalającego dla nauczycieli „*Problemy współczesnej biologii*”.

Biorę także udział w działalności na rzecz lokalnego środowiska akademickiego. Jestem członkiem komisji finansowej Instytutu Biologii Eksperymentalnej, przedstawicielem pracowników niesamodzielnych do Rady Wydziału Nauk Biologicznych UW. i byłam członkiem grupy roboczej ds. przygotowania/opracowania nowego programu studiów Genetyka i biologia eksperymentalna (GiBE). W 2015 roku współorganizowałam międzynarodową doroczną konferencję stowarzyszenia Magnolia Society International, "Magnolia Tour 2015, Polska" (12-21 kwietnia 2015), która odbyła się pod patronatem Polskiego Towarzystwa Botanicznego (PTB).

*Wykaz wszystkich moich publikacji, doniesień konferencyjnych oraz pozostałe działania składające się na moją aktywność naukową wraz z informacją o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych, współpracy naukowej i popularyzacji nauk przedstawiłam jako załącznik nr 4.*

## Literatura

---

- [1] Evert R.F. *Esau's plant anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body: their structure, function, and development.* Wiley, USA, 2006
- [2] Leibfried A., To J.P., Busch W., Stehling S., Kehle A., Demar M., Kieber J.J., Lohmann J.U. WUSCHEL controls meristem function by direct regulation of cytokinin-inducible response regulators. *Nature* (2005) 438: 1172–1175
- [3] Yadav R.K., Girke T., Pasala S., Xie M., Reddy G.V. Gene expression map of the *Arabidopsis* shoot apical meristem stem cell niche. *PNAS* (2009) 106(12): 4941–4946
- [4] Pi L., Aichinger E., van der Graaff E., Llavata-Peris C.I., Weijers D., Hennig L., Groot E., Laux T. Organizer-derived WOX5 signal maintains root columella stem cells through chromatin-mediated repression of CDF4 expression. *Developmental Cell* (2015) 33: 576–588
- [5] Sijacic P., Bajic M., McKinney E.C., Meagher R.B., and Deal R.B. Chromatin accessibility changes between *Arabidopsis* stem cells and mesophyll cells illuminate cell type-specific transcription factor networks. *Plant Journal* (2018) 94(2): 215–231
- [6] Suer S., Agusti J., Sanchez P., Schwarz M., Greb T. WOX4 Imparts Auxin Responsiveness to Cambium Cells in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. (2011) 23(9): 3247–3259
- [7] Gursansky N.R., Jouannet V., Grünwald K., Sanchez P., Laaber-Schwarz M., and Greb T. MOL1 is required for cambium homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant J.* (2016) 86(3): 210–220
- [8] Carles C.C., Fletcher J.C. Shoot apical meristem maintenance: the art of a dynamic balance. *Trends Plant Sci.* (2003) 8:394–401
- [9] Doerner P. Plant Meristems: A Merry-Go-Round of Signals. *Curr Biol.* (2003) 13:R368–R374
- [10] Schaller G.E., Bishopp A., Kieber J.J. The Yin-Yang of Hormones: Cytokinin and Auxin Interactions in Plant Development. *Plant Cell* (2015) 27(1): 44–63
- [11] Hall A.E. *Crop Responses to the Environment.* CRC Press, Boca Raton, FL, 2001
- [12] Larkindale J., Hall J.D., Knight M.R., Vierling E. Heat Stress Phenotypes of *Arabidopsis* Mutants Implicate Multiple Signaling Pathways in the Acquisition of Thermotolerance. *Plant Physiol.* (2005) 138:882–897
- [13] De Tullio MC, Jiang K, Feldman LJ. Redox regulation of root apical meristem organization: Connecting root development to its environment. *Plant Physiol Biochem.* (2010) 48:328e336
- [14] Hanzawa T, Shibasaki K, Numata T, Kawamura Y, Gaude T, Rahman A. Cellular Auxin Homeostasis under High Temperature Is Regulated through a SORTING NEXIN1–Dependent Endosomal Trafficking Pathway. *Plant Cell* (2013) 25:3424–3433
- [15] Zhu J, Zhang KX, Wang WS, Gong W, Liu WC, Chen HG et al., Low Temperature Inhibits Root Growth by Reducing Auxin Accumulation via ARR1/12. *Plant Cell Physiol.* (2015) 56:(4)727–736
- [16] Penfield S. Temperature perception and signal transduction in plants. *New Phytol.* (2008) 179:615–628.
- [17] Wang R., Zhang Y., Kieffer M., Yu H., Kepinski S., Estelle M. HSP90 regulates temperature-dependent seedling growth in *Arabidopsis* by stabilizing the auxin co-receptor F-box protein TIR1. *Nat Commun.* (2016) 7:10269
- [18] Aloni R., Pradel K.S., Ullrich C.I. The three-dimensional structure of vascular tissues in *Agrobacterium tumefaciens* induced crown galls and in the host stems of *Ricinus communis* L. *Planta* (1995) 196:597–605
- [19] Aloni R., Wolf A., Feigenbaum P., Avni A., Klee H.J. The never ripe mutant provides evidence that tumor-induced ethylene controls the morphogenesis of *Agrobacterium tumefaciens* induced crown galls on tomato stems. *Plant Physiol* (1998) 117:841–849
- [20] Gibala M., Kicia M., Sakamoto W., Gola E.M., Kubrakiewicz J., Smakowska E., Janska H. The Lack of Mitochondrial AtFtsH4 Protease Alters *Arabidopsis* Leaf Morphology at the Late Stage of Rosette Development under Short-Day Photoperiod. *Plant J.* (2009) 59: 685–699
- [21] Kicia M., Gola E.M., Janska H. Mitochondrial Protease AtFtsH4 Protects Ageing *Arabidopsis* Rosettes against Oxidative Damage under Short-Day Photoperiod. *Plant Signal Behav* (2010) 5:126–128
- [22] Depuydt S., Putnam M., Holsters M., Vereecke D. *Rhodococcus fascians*, an emerging threat for ornamental crops. In: da Silva Teixeira JA (ed) *Floriculture, ornamental and plant biotechnology: advances and topical issues*, vol V. Global Science Books, London, 2008, 480–489
- [23] Pertry I., Vaclavikova K., Depuydt S., Galuszka P., Spichal L., Temmerman W., Stes E., Schmulling T., Kakimoto T., Van Montagu M., Strnad M., Holsters M., Tarkowski P., Vereecke D. Identification of *Rhodococcus fascians* cytokinins and their modus operandi to reshape the plant. *P Natl Acad Sci USA* (2009) 106:929–934
- [24] Pertry I., Vaclavikova K., Gemrotova M., Spichal L., Galuszka P., Depuydt S., Temmerman W., Stes E., De Keyser A., Riefler M., Biondi S., Novak O., Schmulling T., Strnad M., Tarkowski P., Holsters M., Vereecke D. *Rhodococcus fascians* impacts plant development through the dynamic Fas-mediated production of a cytokinin mix. *Mol Plant Microbe Interact* (2010) 23:1164–1174
- [25] Stes E., Depuydt S., De Keyser A., Matthys C., Audenaert K., Yoneyama K., Werbrouck S., Goormachtig S., Vereecke D. Strigolactones as an auxiliary hormonal defence mechanism against leafy gall syndrome on *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot* (2015) 66:5123–5134
- [26] de O. Manes C.L., Van Montagu M., Prinsen E., Goethals K., Holsters M. De novo cortical cell division triggered by the phytopathogen *Rhodococcus fascians* in tobacco. *Mol Plant Microbe Interact* (2001) 14:189–195
- [27] de O Manes C.L., Beeckman T., Ritsema T., Van Montagu M., Goethals K., Holsters M. Phenotypic alterations in *Arabidopsis thaliana* plants caused by *Rhodococcus fascians* infection. *J Plant Res.* (2004) 117(2):139–45
- [28] de Angelis, C. D., and A. Flanagan. Tuberculosis—a global problem requiring a global solution. *JAMA* (2005) 293:2793–2794.
- [29] <http://www.who.int/topics/tuberculosis/en/>

- [30] Mayer K.F.X., Schoof H., Haecker A., Lenhard M., Jürgens G., Laux T. Role of WUSCHEL in regulating stem cell fate in the Arabidopsis shoot meristem. *Cell* (1998) 95: 805-815
- [31] Haecker A., Groß-Hardt R., Geiges B., Sarkar A., Breuninger H., Herrmann M., Laux T. Expression dynamics of WOX genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in Arabidopsis thaliana. *Development* (2004) 131: 657-668,
- [32] Nardmann J., Werr W. The invention of WUS-like stem cell-promoting functions in plants predates leptosporangiate ferns. *Plant Mol. Biol.* (2012) 78: 123-134
- [33] Moore I., Galweiler L., Grosskopf D., Schell J., Palme K. A transcription activation system for regulated gene expression in transgenic plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1998) 95: 376-381
- [34] Turczyn M. ABC architektury kwiatu. *Postępy Biologii Komórki* (2011) 38(4):673684
- [35] Soltis D.E., Chanderbali A.S., Kim S., Buzgo M., Soltis P.S. The ABC Model and its Applicability to Basal Angiosperms. *Annals of Botany* (2007) 100(2): 155–163
- [36] Kim S, Koh J, Yoo M-J, Kong H, Hu Y, Ma H, et al. Expression of floral MADS-box genes in basal angiosperms: implications for the evolution of floral regulators. *Plant J.* (2005) 43: 724-744
- [37] Øllgaard B., 1990. Lycopodiaceae. W: Kramer K.U., Green P.S. [red.], *The families and genera of vascular plants. Vol. I: Pteridophytes and gymnosperms.* Springer, Berlin, str.:31-39.
- [38] Svensson M.E., Engström P. Closely related MADS-box genes in club moss (*Lycopodium*) show broad expression patterns and are structurally similar to, but phylogenetically distinct from, typical seed plants MADS-box genes. *New Phytol.* (2002) 154: 439–450.
- [39] Svensson M.E., Johannesson H., Engström P. The LAMB1 gene from the club moss, *Lycopodium annotinum*, is a divergent MADS-box gene, expressed specifically in sporogenic structures. *Gene* (2000) 253: 31–43.

Wolfgang Alge