

1. **Imię i nazwisko:** Katarzyna Sokołowska

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

- a) Magister biologii. Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław 2003r.
b) Doktor nauk biologicznych. Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław 2008r.
Tytuł rozprawy doktorskiej: „Zjawiska izolacji i łączności symplastowej w rozwoju kambium”.
Praca wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Beaty Zagórskiej-Marek.
c) Studia podyplomowe: Menedżer Projektu Badawczo-Rozwojowego, projekt współfinansowany ze środków UE w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, Wyższa Szkoła Bankowa we Wrocławiu, 2013r.
-

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

- 2007r.- 2008r. – asystent w Zakładzie Morfologii i Rozwoju Roślin (obecnie Zakład Biologii Rozwoju Roślin), Instytut Biologii Roślin, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski
 - listopad 2008r. - lipiec 2009r. – urlop macierzyński
 - Od października 2008r. do chwili obecnej – adiunkt w Zakładzie Biologii Rozwoju Roślin, Instytut Biologii Eksperymentalnej, 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:*

Funkcjonowanie szlaków transportu krótko- i długodystansowego u roślin lądowych.

b) *Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:*

IF zgodny z rokiem opublikowania, punkty MNiSW wg listy z dn. 26 stycznia 2017r.

(odnosi się do autora korespondencyjnego)*

1. **Sokołowska K***, Zagórska-Marek B. 2012. Symplasmic, long-distance transport in xylem and cambial regions in branches of *Acer pseudoplatanus* (Aceraceae) and *Populus tremula* x *P. tremuloides* (Salicaceae). *Am. J. Bot.* 99 (11): 1-11, doi: 10.3732/ajb.1200349 (IF=2,664, MNiSW 35)(P1).

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w zaplanowaniu układów eksperymentalnych, wykonaniu wszystkich doświadczeń, opracowaniu części koncepcji projektu dotyczącej transportu symplastowego w drewnie wtórnym oraz współpracy w interpretacji wyników. Pełniłam główną rolę

w przygotowaniu manuskryptu. Jestem równocześnie pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym w tej publikacji. Udział procentowy szacuję na **80 %**.

- 2. Sokołowska K.*** 2013. Symplasmic transport in wood: the importance of living xylem cells. [W] *Symplasmic transport in vascular plants*, Sokołowska K, Sowiński P [red.] Springer Science+Business Media, New York, str. 101-132, doi: 10.1007/978-1-4614-7765-5_4 (MNiSW 5)(**P2**).

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, krytycznym przeglądzie i interpretacji literatury oraz przygotowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy wynosi **100%**.*

- 3. Słupianek A, Kasprowicz-Maluśki A, Myśkow E, Turzańska M, Sokołowska K*.** 2019. Endocytosis acts as transport pathway in wood. *New Phytol.*, doi: 10.1111/nph.15637 (IF=7,433, MNiSW 45)(**P3**).

*Mój wkład w powstanie tej pracy obejmuje opracowanie koncepcji projektu (z pomocą dr Anny Kasprowicz-Maluśki), zaplanowanie wszystkich układów eksperymentalnych, interpretację uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu. Brałam udział w wykonaniu większości eksperymentów. Jestem autorem korespondencyjnym w tej publikacji. Udział procentowy szacuję na **50%**.*

- 4. Sokołowska K*, Turzańska M, Nilsson M-C.** 2017. Symplasmic and apoplasmic transport inside feather moss stems of *Pleurozium schreberi* and *Hylocomium splendens*. *Ann. Bot.* 120(5): 805-817, doi: 10.1093/aob/mcx102 (IF=4,041, MNiSW 40)(**P4**).

*Mój wkład w powstanie tej pracy obejmuje zaplanowanie układu eksperymentalnego, wykonanie, z pomocą mgr Magdaleny Turzańskiej, wszystkich doświadczeń, oraz interpretację uzyskanych wyników. Wspólnie z prof. Marie-Charlotte Nilsson opracowałam koncepcję projektu i przygotowałam manuskrypt. Jestem zarówno pierwszym autorem jak i autorem korespondencyjnym w tej pracy. Udział procentowy szacuję na **65%**.*

- 5. Sokołowska K, Kizińska J, Szewczuk Z, Banasiak A*.** 2014. Auxin conjugated to fluorescent dyes – a tool for the analysis of auxin transport pathways. *Plant Biol.* 16(5): 866-77, doi: 10.1111/plb.12144 (IF=2,633, MNiSW 30)(**P5**).

*Mój wkład w powstanie tej pracy obejmuje opracowanie struktury chemicznej koniugatów, polegającej na doborze odpowiednich znaczników fluorescencyjnych oraz metod koniugacji, oczyszczania i identyfikacji produktu. Wykonałam wszystkie eksperymenty prowadzące do uzyskania koniugatów gotowych do analiz biologicznych (synteza produktu, jego oczyszczenie, identyfikacja, testy stabilności). Brałam udział w eksperymentach analizujących dystrybucję koniugatów w roślinach, a także uczestniczyłam w interpretacji wyników tych analiz. Brałam udział w przygotowaniu manuskryptu. Jestem pierwszym autorem tej publikacji, swój wkład w jej powstanie szacuję na **40%**.*

Sumaryczny Impact Factor wg listy Journal Citation Reports (JCR) dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne, z roku ich opublikowania, wynosi: **16,771**

Sumaryczna liczba punktów wg listy MNiSW dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wynosi: **155**.

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

Wstęp

Prawidłowe funkcjonowanie organizmu roślinnego wymaga koordynacji procesów fizjologicznych i rozwojowych za pośrednictwem szlaków transportu krótko- i długodystansowego przebiegających w obrębie apoplastu i symplastu. Apostast obejmuje układ połączonych ścian komórkowych, przestworów międzykomórkowych oraz światła martwych elementów przewodzących ksylemu. Symplast, natomiast, stanowi ciągły system protoplastów komórek połączonych plazmodesmami oraz elementów przewodzących floemu [1,2]. Transport długodystansowy przebiega najczęściej wzdłuż osi apikalno-bazalnej za pośrednictwem pasm ksylemu i floemu [3]. W pasmach ksylemowych odbywa się głównie transport wody, soli mineralnych i prostych związków organicznych, takich jak aminokwasy czy kwasy karboksylowe, ale także hormonów roślinnych, peptydów czy związków azotowych [4-7]. Podobną funkcję pełnią pasma floemowe, w których zachodzi selektywny transport długodystansowy substancji pokarmowych oraz licznych czynników regulatorowych takich jak cukry, aminokwasy, amidy, hormony roślinne (przede wszystkim auksyna), białka, peptydy czy różne odmiany cząsteczek RNA [3,7-10]. Jednakże oprócz transportu długodystansowego do prawidłowego rozprowadzania związków w obrębie organizmu roślinnego konieczny jest także efektywny transport związków na niewielkie odległości, pomiędzy sąsiadującymi komórkami. Transport krótkodystansowy może odbywać się szlakiem symplastowym przez plazmodesmy, szlakiem apoplastowym, poprzez dyfuzję związków w systemie ściany komórkowej oraz w skutek transportu przez błony biologiczne za pośrednictwem wyspecjalizowanych kanałów i nośników [1,11]. Szczególną rolę w wymianie związków na poziomie komórkowym odgrywa transport pęcherzykowy i związane z nim procesy endo- i egzocytozy, które umożliwiają pobór oraz wydzielanie związków na granicy apoplastu i symplastu [12-14].

Moje zainteresowania naukowe koncentrują się wokół dróg i mechanizmów transportu krótko- i długodystansowego. Swoje badania prowadzę na odmiennych grupach roślin – drzewach liściastych, *Arabidopsis thaliana* oraz mchach. Dla gatunków roślin drzewiastych, osiągających znaczne rozmiary wzdłuż osi apikalno-bazalnej oraz w kierunku radialnym, efektywne rozprowadzanie związków w obrębie całego organizmu stanowi duże wyzwanie. Transport krótko- i długodystansowy stanowi również interesujący problem w badaniach przedstawicieli pierwszych roślin lądowych czyli m.in. mchów, u których komórki odpowiedzialne za rozprowadzanie wody i substancji pokarmowych a także mechanizmy chroniące przed utratą wody nie są tak silnie wyspecjalizowane jak u roślin waskularnych. Badane przeze mnie grupy roślin charakteryzują się odmienną budową morfologiczno-anatomiczną oraz pozycją systematyczną. Pomimo tych różnic, ich szlaki transportu krótko- i długodystansowego są podobne do siebie pod względem funkcjonalnym, a ich prawidłowe działanie wymaga integracji procesów przebiegających w obrębie apoplastu, symplastu oraz na granicy tych dwóch systemów. Charakterystyka szlaków transportowych i ich koordynacji u różnych filogenetycznie grup pozwala na lepsze rozumienie uniwersalnych mechanizmów regulujących prawidłowe funkcjonowanie organizmów roślinnych.

U roślin drzewiastych jedną z kluczowych tkanek odpowiedzialnych za procesy transportu krótko- i długodystansowego jest drewno wtórne. Tkanka ta ma charakter heterogenny i składa się zarówno z elementów martwych (np. naczynia, cewki, większość włókien) jak i żywych (np. miękisz drzewny, niektóre włókna), które tworzą przestrzenny system odpowiedzialny za transport w kierunku osiowym oraz poprzecznym [15,16].

W ostatnich latach uwaga badaczy skupia się coraz bardziej na roli miękiszu drzewnego, tworzącego trójwymiarowy układ żywych komórek połączonych plazmodesmami [15,17]. Komórki te, razem z elementami miękiszu łykowego, integrują system tkanek wtórnych z kambium, stanowiąc ważny element transportu w obrębie symplastu [18]. Pod względem funkcjonalnym, w miękiszu drzewnym można wyróżnić dwa typy komórek – kontaktowe i izolowane. Komórki kontaktowe, w drewnie drzew liściastych, określane również terminem miękiszu przynacyniowego, są zlokalizowane wokół elementów trachealnych (głównie naczyń) i odpowiadają za wymianę związków na granicy apoplastu i symplastu za pośrednictwem charakterystycznych, dużych jamek kontaktowych [15,19,20]. W błonie zamykającej jamki kontaktowych nie występują plazmodesmy [15,19,21], w związku z tym transport pomiędzy elementami trachealnymi a komórkami kontaktowymi nie może przebiegać szlakiem symplastowym. Drugi typ funkcjonalny miękiszu drzewnego to komórki izolowane, które charakteryzują się brakiem jamek kontaktowych łączących je z naczyniami, dlatego nie biorą udziału w transporcie związków z/do elementów trachealnych. Jednakże, dzięki obecności licznych plazmodesm w jamkach prostych łączących sąsiadujące ze sobą elementy miękiszu drzewnego [15], komórki izolowane odgrywają istotną rolę w transporcie symplastowym w drewnie wtórnym. Podsumowując, funkcjonowanie miękiszu drzewnego jest bezpośrednio związane z procesami transportu związków na granicy apoplastu i symplastu oraz pomiędzy komórkami połączonymi symplastowo, a szczegółowe poznanie mechanizmów regulujących transport międzykomórkowy w drewnie wtórnym stanowi jedno z wyzwań współczesnej biologii roślin drzewiastych.

Inną, interesującą pod względem mechanizmów transportu grupą roślin, która odgrywa istotną rolę w funkcjonowaniu ekosystemów leśnych, a jednocześnie reprezentuje grupę pierwszych roślin lądowych, są mchy. Mimo braku korzeni i złożonego systemu przewodzącego mchy wykształciły efektywny system transportowy [22,23] przebiegający zarówno drogą zewnętrzną (ektohydryczną) jak i wewnętrzną (endohydryczną). Transport ektohydryczny odbywa się po powierzchni liści i łodyżek, natomiast rozprawianie związków szlakiem endohydrycznym zachodzi za pośrednictwem wydłużonych komórek zlokalizowanych w centralnej części łodyżek [24]. Powszechnie uważa się, że u większości mchów, szczególnie u gatunków należących do klasy prątników (Bryopsida), dominuje transport zewnętrzny [23]. Natomiast możliwość rozprawiania wody i związków odżywczych drogą wewnętrzną ma miejsce głównie u przedstawicieli klasy płonników (Polytrichopsida) dzięki obecności wyspecjalizowanych komórek tzw. hydroidów, stereidów czy leptoidów [25]. W przeciwieństwie do tej powszechnej opinii badania anatomiczne oraz analizy rozprzestrzeniania się pierwiastków znakowanych radioaktywnie w łodyżkach gametofitów [25-27] sugerują możliwość transportu wewnętrznego u większości mchów [25,28]. Nadal jednak brakuje bezpośrednich dowodów eksperymentalnych potwierdzających obecność oraz funkcjonalność szlaków transportu krótko- i długodystansowego w tej grupie roślin. Badania procesów odpowiedzialnych za rozprawianie wody oraz substancji pokarmowych w łodyżkach mchów pozwolą zatem nie tylko wykazać możliwość transportu wewnętrznego, ale przede wszystkim lepiej poznać i zrozumieć mechanizmy umożliwiające przystosowanie się pierwszych roślin lądowych do środowiska.

Zrozumienie procesów odpowiedzialnych za funkcjonowanie szlaków transportowych u roślin wymaga gruntownej znajomości budowy badanych komórek i tkanek na poziomie anatomicznym i ultrastrukturalnym oraz opanowania metod wizualizacji analizowanych dróg transportu pod kątem ich kierunku czy też zależności od czynników regulatorowych. W tym celu wykorzystuje się różnorodne znaczniki fluorescencyjne, które po aplikacji do roślin, najczęściej za pośrednictwem systemu przewodzącego, mogą podlegać

lokalizacji na poziomach tkankowym i komórkowym z wykorzystaniem mikroskopii fluorescencyjnej oraz konfokalnej [29]. Analiza dystrybucji znaczników symplastowych (np. karboksylfluoresceiny, HPTS), które rozprzestrzeniają się pomiędzy komórkami przez plazmodesmy i nie dyfundują (lub dyfundują w niewielkim stopniu) przez błonę komórkową do apoplastu, pozwala obrazować szlaki transportu symplastowego. Natomiast, detekcja znaczników apoplastowych (np. sulforodaminy, Texas Red) lub błonowych (np. barwniki typu FM) umożliwia prowadzenie analiz transportu apoplastowego lub pęcherzykowego [30-32]. Ponadto, wykonywanie pomiarów stopnia kolokalizacji wybranych znaczników fluorescencyjnych aplikowanych do roślin w obecności specyficznych inhibitorów w połączeniu z techniką immunodetekcji związków zaangażowanych w procesy transportowe pozwala analizować mechanizmy transportu w złożonych układach eksperymentalnych [33-37]. Osobne, ale nie mniej ważne znaczenie w analizach szlaków transportu krótko- i długodystansowego pełnią związki, które stanowią koniugaty naturalnie występujących w roślinach czynników regulatorowych, np. hormonów oraz wybranych znaczników fluorescencyjnych. Dzięki wykorzystaniu mikroskopii fluorescencyjnej oraz konfokalnej związki te stanowią nowe narzędzia badawcze, które pozwalają na obrazowanie szlaków transportu związków endogennych w tkankach roślinnych [38,39].

Cel badań

Głównym celem moich badań była identyfikacja oraz charakterystyka krótko- i długodystansowych szlaków transportowych u wybranych grup roślin, przebiegających w systemach apoplastu, symplastu oraz na granicy tych dwóch układów. Badania prowadzono na odmiennych poziomach organizacji – tkankowym, komórkowym i subkomórkowym, oraz na różnych gatunkach roślin – wybranych przedstawicielach drzew liściastych (*Populus tremula* × *tremuloides*, *Acer pseudoplatanus*, *Fraxinus excelsior*), modelowej roślinie zielnej *Arabidopsis thaliana* oraz dwóch gatunkach mchów prątników *Pleurozium schreberi* i *Hylocomium splendens*. Prowadzone badania pozwoliły lepiej zrozumieć mechanizmy transportu krótko- i długodystansowego koordynującego procesy fizjologiczne i rozwojowe oraz zapewniającego prawidłowe funkcjonowanie organizmów roślinnych.

Osiągnięcie naukowe:

Zagadnieniami komunikacji u roślin oraz funkcjonowaniem szlaków transportowych zaczęłam się interesować w czasie studiów biologicznych realizowanych na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego. W pracy licencjackiej, pt. "Komunikacja w świecie roślin", przygotowanej w 2001r. pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Beaty Zagórskiej-Marek w Zakładzie Botaniki Ogólnej (obecnie Zakład Biologii Rozwoju Roślin), opisałam różne strategie roślin, które umożliwiają im sprawną wymianę informacji ze środowiskiem zewnętrznym, a szczególnie z innymi organizmami. W czasie studiów magisterskich podjęłam się rozwiązania problemu badawczego, który został sformułowany przez Panią prof. dr hab. Beatę Zagórską-Marek i dotyczył transportu krótkodystansowego przebiegającego za pośrednictwem plazmodesm w kambium – merystemie bocznym roślin drzewiastych. Eksperymenty prowadzone pod opieką Pani prof. dr hab. Doroty Kwiatkowskiej (obecnie Uniwersytet Śląski w Katowicach) umożliwiły przygotowanie pracy magisterskiej pt. „Izolacja symplazmowa komórek roślinnych na przykładzie kambium i floemu wtórnego”, obronionej

w 2003r. w Zakładzie Morfologii i Rozwoju Roślin (obecnie Zakład Biologii Rozwoju Roślin). Wykazałam w niej sezonowe zmiany w stopniu łączności symplastowej pomiędzy dwoma typami komórek kambium – inicjalami promieniowymi i wrzecionowatymi. Badania związane z regulacją stanów konformacyjnych plazmodesm i rolą transportu symplastowego w kambium kontynuowałam następnie w trakcie studiów doktoranckich na Wydziale Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego w latach 2004-2008r. Ich efektem była praca doktorska pt. „Zjawiska izolacji i łączności symplastowej w rozwoju kambium”, przygotowana pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Beaty Zagórskiej-Marek i obroniona w czerwcu 2008r. Dowiodłam w niej, m.in., że transport znaczników symplastowych pomiędzy różnymi typami komórek w kambium jest kierunkowy oraz podlega nie tylko sezonowym ale również przestrzennym zmianom o charakterze cyklicznym. Wyniki przedstawione w pracy doktorskiej zostały opublikowane w 2012r. w czasopiśmie *American Journal of Botany*. Publikacja ta prezentuje nie tylko główne osiągnięcia pracy doktorskiej (przestrzenne i cykliczne zmiany stopnia łączności symplastowej w kambium), ale także wyniki badań prowadzonych przeze mnie po doktoracie, dotyczących funkcjonowania szlaków transportowych w drewnie wtórnym. Badania odnoszące się do drewna wtórnego, prowadzone w trakcie zatrudnienia na UW, zamieszczone we wspomnianym artykule w *American Journal of Botany* [P1] oraz szerzej opisane w kolejnych akapitach, należą do mojego osiągnięcia naukowego w prezentowanym cyklu publikacji.

Po zatrudnieniu na stanowisku adiunkta w Zakładzie Morfologii i Rozwoju Roślin rozpoczęłam analizy dróg transportu krótko- i długodystansowego oraz jego mechanizmów regulacyjnych w drewnie wtórnym wybranych gatunków drzew liściastych, a także w gametofitach mchów prątników. Podjęta tematyka badawcza wymagała dopracowania odpowiedniej metodyki podawania znaczników fluorescencyjnych w celu wizualizacji szlaków transportowych. Ważnym aspektem przy opracowywaniu protokołu było wprowadzenie wystarczającej objętości roztworu znacznika w stosunkowo krótkim okresie czasu. Umożliwiło to detekcję fluorochromu w tkankach wewnętrznych na preparatach anatomicznych z wykorzystaniem mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej oraz uzyskanie licznych, powtarzalnych wyników, odpowiednich do dalszych opracowań statystycznych.

W analizach szlaków transportu symplastowego w drewnie wtórnym, prowadzonych po doktoracie i opublikowanych w *American Journal of Botany* [P1], roztwory znaczników były podawane dwiema metodami: 1) przez poprzecznie uciętą powierzchnię ogonków liściowych lub 2) przez poprzecznie uciętą powierzchnię całych łodyg o budowie wtórnej. W przypadku badanych gatunków drzew liściastych najwyższą efektywność aplikacji uzyskiwano stosując drugą metodę czyli wówczas, gdy roztwory znaczników były podawane naprzemiennie z wodą wodociągową przez poprzecznie uciętą powierzchnię gałązek. W prowadzonych przeze mnie analizach dróg i kierunków transportu znaczników fluorescencyjnych w drewnie wtórnym *Acer pseudoplatanus* oraz *Populus tremula* × *tremuloides* (gatunek modelowy) wykazałam, iż aplikowane do roślin roztwory związków są najpierw transportowane akropetalnie, długodystansowym szlakiem apoplastowym w naczyniach, a następnie rozprowadzane radialnie, na niewielkie odległości, w systemie miękkiszki drzewnego. W przypadku aplikacji dwuocianu karboksyfluoresceiny (CFDA), związek ten był najpierw rozprowadzany apoplastowo w świetle naczyń. Następnie, po dyfuzji do komórek kontaktowych oraz dzięki aktywności enzymów cytoplazmatycznych ulegał konwersji do karboksyfluoresceiny, typowego barwnika symplastowego, który nie ma możliwości dyfuzji przez błonę komórkową i rozprzestrzenia się między komórkami przez plazmodesmy. Kolejne, interesujące wyniki uzyskałam dzięki równoczesnej aplikacji znaczników apoplastowych i symplastowych oraz

analizie ich rozmieszczenia w komórkach drewna wtórnego. Eksperymenty te pozwoliły zobrazować obecność oraz odrębność systemów transportowych apoplastu i symplastu w regionie drewna wtórnego u drzew liściastych. Udowodniłam również, że transport symplastowy odgrywa istotną rolę w badanej tkance, a przestrzenny układ żywych komórek mięksiszowych połączonych plazmodesmami stanowi ważny element odpowiedzialny za krótko- i długodystansową komunikację u drzew [P1]. Moje badania jednoznacznie potwierdziły, że promienie drzewne i przebiegający w nich szlak symplastowy funkcjonują jako główna droga transportowa związków z drewna wtórnego do komórek merystematycznych kambium. Ponadto, uzyskane wyniki, sugerują, że miękisz drzewny stanowi ważny szlak transportowy dla substancji endogennych, głównie związków odżywczych oraz czynników o charakterze regulatorowym i sygnałnym, co stanowi istotny wkład moich badań w zrozumienie funkcjonowania organizmów drzewiastych.

Wyniki moich badań dotyczących długodystansowego transportu symplastowego u roślin drzewiastych spotkały się z dużym zainteresowaniem środowiska naukowego na międzynarodowych konferencjach (m.in. wybór abstraktu do prezentacji ustnej przez organizatorów konferencji Plant Vascular Biology 2010, Columbus, Ohio, USA), a artykuł opublikowany w *American Journal of Botany* [P1], należący do mojego osiągnięcia naukowego, został wyróżniony przez zespół redakcyjny czasopisma osobnym komunikatem prasowym na portalach EurekAlert i Science News. Pragnąc bardziej przybliżyć środowisku naukowemu istotną rolę, jaką pełni komunikacja symplastowa w funkcjonowaniu roślin, przyjął zaproszenie redaktora Springer Science+Business Media i podjęłam się wspólnie z Panem prof. dr hab. Pawłem Sowińskim z Uniwersytetu Warszawskiego redakcji książki pt. „Symplasmic transport in vascular plants”. Pozycja ta opisuje aktualną wiedzę dotyczącą transportu międzykomórkowego związków nisko- i wielkocząsteczkowych przez plazmodesmy (komunikacja krótkodystansowa) oraz za pośrednictwem pasm floemowych (komunikacja długodystansowa), a także mechanizmów regulujących efektywność transportu, ze szczególnym uwzględnieniem stresu środowiskowego. Omawia również znaczenie plazmodesm w rozwoju roślin oraz opisuje szczegółowo mechanizm transportu floemowego. Dzięki współpracy z naukowcami z czołowych ośrodków badawczych na świecie (m.in. Katrin Ehlers, Justus Liebig University, Niemcy; Anna Bilaska-Kos, IHAR, Radzików, Polska; Johannes Liesche i Alexander Schulz, University of Copenhagen, Dania; Craig Atkins, University of Western Australia, Australia; Jae-Yean Kim Gyeongsang National University, Południowa Korea; Robyn Overall, University of Sydney, Australia oraz Paweł Sowiński Uniwersytet Warszawski, Polska) i przygotowaniu przez nich wybranych rozdziałów, redagowana książka stanowi ważną pozycję w literaturze przedmiotu (rozdziały w wersji elektronicznej były pobierane ponad 6500 razy ze strony wydawcy <http://www.springer.com>). Tym bardziej, czuję się wyróżniona, iż jako autor jednego z rozdziałów, miałam możliwość scharakteryzowania transportu symplastowego w drewnie wtórnym oraz przedstawienia roli, jaką pełnią żywe komórki w tej tkance. Rozdział ten jest jednym z elementów mojego osiągnięcia naukowego [P2]. W tej obszernej pracy przeglądowej scharakteryzowałam przestrzenny system żywych komórek miękiszu drzewnego układu podłużnego i poprzecznego na poziomach tkankowym i komórkowym, zwracając szczególną uwagę na udział miękiszu drzewnego w transporcie symplastowym oraz różnice funkcjonalne pomiędzy komórkami izolowanymi i kontaktowymi. Szczegółowo opisałam również znaczenie komórek kontaktowych dla transportu substancji na granicy apoplastu i symplastu, ich rolę w regulacji gospodarki cukrowej w drewnie wtórnym, eliminacji embolizmu, obronie przed patogenami oraz wpływie na procesy różnicowania elementów drewna.

Ze względu na obecność zarówno martwych jak i żywych elementów, do prawidłowego funkcjonowania drewna wtórnego niezbędna jest możliwość wymiany związków pomiędzy odrębnymi od siebie systemami apoplastu i symplastu. W procesie tym kluczową rolę pełni, wykazany przez nas po raz pierwszy u drzew, proces endocytozy przebiegający w komórkach mięksiszu przynacyniowego (komórki kontaktowe). Odkrycie to zostało opublikowane w renomowanym czasopiśmie *New Phytologist* [P3] i jest bezpośrednim wynikiem realizacji kierowanego przeze mnie projektu badawczego pt. „Charakterystyka endocytozy i roli mięksiszu drzewnego w transporcie międzykomórkowym w drewnie wtórnym wybranych gatunków drzew liściastych”, który uzyskał finansowanie w 2015r. przez Narodowe Centrum Nauki (NCN), w konkursie OPUS. W opisywanym artykule, stanowiącym jedno z osiągnięć prezentowanego cyklu habilitacyjnego [P3], przedstawiono nowy mechanizm radialnego transportu krótkodystansowego w drewnie wtórnym, który umożliwia komórkom kontaktowych pobieranie związków z soku ksylemowego. W prowadzonych przeze mnie badaniach, dzięki wykorzystaniu mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej, po raz pierwszy wykazano eksperymentalnie, że komórki mięksiszu przynacyniowego trzech analizowanych gatunków roślin drzewiastych: *Acer pseudoplatanus*, *Fraxinus excelsior* oraz *Populus tremula* × *tremuloides* są wyspecjalizowane do transportu związków na granicy apoplastu i symplastu. Komórki te wykazują wysoką aktywność metaboliczną, a ich specyficzna ultrastruktura, analizowana przy pomocy transmisyjnej mikroskopii elektronowej, charakteryzuje się m.in. dobrze rozwiniętym systemem retikulum endoplazmatycznego, obecnością licznych mitochondriów, wakuol a także warstwy amorficznej w regionie błony zamykającej jamek kontaktowych. Co najważniejsze, kierowane przeze mnie badania potwierdziły, że do komórek mięksiszu przynacyniowego mogą być transportowane związki o różnej masie i strukturze przestrzennej takie jak wielkocząsteczkowe barwniki fluorescencyjne Texas Red (TR) o masie molowej 3 kDa (3TR) lub 10 kDa (10TR), czy barwniki błonowe typu FM, które są rozprzestrzeniane w obrębie komórki na drodze transportu pęcherzykowego. Znaczniki, aplikowane do roślin przez system waskularny i transportowane przez jamki kontaktowe, były lokalizowane w komórkach mięksiszu przynacyniowego w wybranych kompartmentach ich systemu endomembranowego, wskazując na udział endocytozy w analizowanym procesie. Funkcjonalność transportu pęcherzykowego w drewnie wtórnym została ostatecznie potwierdzona w eksperymentach, w których zastosowano inhibitor tego typu transportu – brefeldynę A (BFA). Związek ten wywołał powstanie charakterystycznych kompartmentów BFA w komórkach mięksiszu przynacyniowego w roślinach, do których aplikowano równocześnie roztwór inhibitora i barwnika błonowego. Kolejne eksperymenty, których wyniki opublikowano w opisywanym artykule [P3], pozwoliły określić, jaki typ endocytozy funkcjonuje w drewnie wtórnym. Najlepiej poznanym typem endocytozy u roślin jest endocytoza zależna od klatryny (ang. *clathrin-mediated endocytosis*; CME), w której formowane pęcherzyki otaczane są koszyczkiem zbudowanym z białek klatrynowych [40]. Endocytoza może również przebiegać w sposób niezależny od klatryny, tak jak w przypadku np. endocytozy związanej z obecnością mikrodomen błonowych (tratw lipidowych) czy endocytozy fazy płynnej (pinocytozy). Przeprowadzone analizy oparte na immunolokalizacji białek klatrynowych w komórkach mięksiszu przynacyniowego i ich kolokalizacji z sygnałami fluorescencyjnymi barwników błonowych pobieranych przez analizowane komórki z soku ksylemowego stanowiły pierwsze i istotne dowody zaangażowania CME w radialny transport związków na granicy apoplastu i symplastu u drzew. Ostatecznego potwierdzenia obecności endocytozy zależnej od klatryny w drewnie wtórnym dostarczyły eksperymenty z udziałem specyficznych inhibitorów CME takich jak ikarugamycyna, tyrphostin A23 czy LY 296-000. Wymienione inhibitory w istotnym statystycznie stopniu obniżały efektywność transportu barwników

blonowych z naczyń do komórek kontaktowych, potwierdzając tym samym, że w drewnie wtórnym analizowanych gatunków funkcjonuje mechanizm zależny od klatryny. W kolejnych eksperymentach, opierających się na aplikacji do roślin roztworów znakowanego fluorescencyjnie białka surowicy wołowej (BSA-Alexa647), wykazano możliwość jego transportu z apoplastu do komórek miękiszu przynacyniowego, ale w procesie niezależnym od klatryny. W wyniku równoczesnej aplikacji znakowanego BSA oraz barwnika błonowego typu FM oba związki ulegały internalizacji do komórek kontaktowych, jednak gromadziły się w osobnych kompartmentach, a ich sygnały fluorescencyjne nie wykazywały kolokalizacji. Równocześnie ikarugamycyna, specyficzny inhibitor CME, nie wpływała na efektywność transportu BSA do miękiszu drzewnego, a pomiędzy próbami kontrolnymi oraz tymi poddawanych działaniu inhibitora nie występowały różnice istotne statystycznie. Podsumowując, wyniki przedstawione w omawianym artykule [P3] dowodzą, po raz pierwszy, funkcjonowania nowego mechanizmu transportu krótkodystansowego związków z naczyń do komórek kontaktowych, który przebiega na drodze endocytozy zależnej oraz niezależnej od klatryny w drewnie wtórnym badanych gatunków drzew liściastych. Odkryty mechanizm tłumaczy, w jaki sposób szlak transportu apoplastowego, przebiegającego za pośrednictwem naczyń na duże odległości jest powiązany z transportem symplastowym, opierającym się na wymianie związków przez plazmodesmy, pomiędzy sąsiadującymi ze sobą, żywymi komórkami miękiszu drzewnego. Pozwala to lepiej zrozumieć mechanizmy transportowe integrujące funkcjonowanie organizmów drzewiastych.

Kolejną grupą roślin, w której charakterystyka mechanizmów transportu krótko- i długodystansowego leży w kręgu moich zainteresowań, są mchy, a w szczególności gatunki o pierzasto rozgałęziających się łodyżkach, takie jak *Pleurozium schreberi* i *Hylocomium splendens*. Gatunki te powszechnie występują w warstwie mszystej lasów półkuli północnej, regulując prawidłowe stosunki wodne oraz obieg składników pokarmowych w tych ekosystemach. Jednakże mimo pełnienia kluczowej roli w funkcjonowaniu zbiorowisk leśnych oraz szeroko zakrojonych badań ekologicznych z wykorzystaniem tych gatunków mchów [41-45], struktura anatomiczna gametofitów *P. schreberi* i *H. splendens* oraz specyfika ich szlaków transportowych są bardzo słabo poznane. W kolejnej pracy należącej do mojego osiągnięcia naukowego [P4], udowodniłam obecność i funkcjonalność szlaków transportu krótko- i długodystansowego w obrębie symplastu i apoplastu w łodyżkach *P. schreberi* i *H. splendens*. Określiłam również w jaki sposób poziom wilgotności powietrza wpływa na efektywność transportu wewnętrznego (endohydrycznego) u badanych gatunków. W celu zrozumienia zasad funkcjonowania wspomnianych szlaków transportowych przeprowadziłam szczegółową analizę anatomiczną łodyżek z wykorzystaniem mikroskopii świetlnej oraz transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM). Badania te wykazały, iż łodyżki gametofitów obu gatunków są pokryte wielowarstwową epidermą, pod którą znajduje się kora zbudowana z wydłużonych komórek miękiszu przewodzącego. Dodatkowo, analizy anatomiczne potwierdziły obecność niewielkiego pasma centralnego w środkowej części łodyżek *P. schreberi*, które nie występuje w gametofitach *H. splendens*. Ściany boczne i terminalne komórek miękiszu przewodzącego u obu gatunków zawierają liczne, okrągłe lub owalne, obszary, w których pokład ściany komórkowej jest wyraźnie cieńszy oraz wyścielony kalozą. Obecność kalozy potwierdzono barwieniem błękitem aniliny oraz dzięki zastosowaniu metod immunofluorescencyjnych. Dzięki badaniom ultrastruktury komórek miękiszu przewodzącego w TEM dowiedziałam obecności licznych plazmodesm w regionach ścian komórkowych, w których wcześniej zidentyfikowano kalozę. Analizowane plazmodesmy charakteryzowały się prostym kanałem cytoplazmatycznym, występowaniem desmotubuli oraz zwężeniem w regionie szyjki.

Wykazanie obecności plazmodesm oraz dodatkowych cech ultrastrukturalnych, takich jak asymetryczne rozmieszczenie organelli względem biegunów danej komórki oraz występowanie wydłużonych plastydów i mitochondriów, potwierdziło specjalizację komórek miększu do transportu substancji pokarmowych oraz pozwoliło zaklasyfikować je do tzw. food-conducting cells. Natomiast analizy ultrastruktury pasma centralnego u *P. schreberi* wykazały, iż składa się ono z martwych komórek hydroidów, które są wyspecjalizowane do transportu wody i należą do tzw. water-conducting cells. W kolejnym etapie, poprzez aplikację do roślin symplastowych i apoplastowych znaczników fluorescencyjnych a następnie ich lokalizację w poszczególnych typach komórek udowodniłam, iż analizowane gatunki wykazują możliwość nie tylko transportu związków po powierzchni organów (ektohydrycznego), ale także transportu wewnętrznego (endohydrycznego). U *H. splendens* funkcjonuje wyłącznie krótkodystansowy transport symplastowy, który przebiega przez plazmodesmy komórek miększu przewodzącego. Natomiast u *P. schreberi*, ze względu na obecność pasma centralnego, dominuje transport apoplastowy za pośrednictwem hydroidów, natomiast transport symplastowy jest ograniczony do wybranych regionów: obszaru załadunku z miększu przewodzącego do pasma centralnego oraz do strefy podwierzchołkowej, w których dochodzi do rozładunku związków z pasma centralnego do komórek miększu przewodzącego i ich dalszego transportu międzykomórkowego w obrębie symplastu. Do kolejnych ważnych osiągnięć prezentowanej publikacji [P4] należą analizy ilościowe tempa rozprzestrzeniania się różnych znaczników wewnątrz łądźzek, skorelowane z warunkami obniżonego i podwyższonego poziomu wilgotności powietrza. Uzyskane wyniki nie tylko potwierdziły, iż prędkość transportu endohydrycznego u obu gatunków istotnie zwiększa się w warunkach obniżonej wilgotności powietrza, ale przede wszystkim wykazały, że tempo rozprzestrzeniania się znaczników w łądźkach *P. schreberi* jest trzykrotnie wyższe niż u *H. splendens*. Szybszy transport endohydryczny u *P. schreberi* wynika z obecności hydroidów w paśmie centralnym, dzięki którym możliwy jest efektywny transport długodystansowy w obrębie apoplastu. Podsumowując, wyniki zamieszczone w opisywanym artykule [P4] po raz pierwszy dokumentują możliwość transportu endohydrycznego u gatunków, które powszechnie uznawane są za rośliny ektohydryczne. Szczegółowa charakterystyka sposobu i kierunków rozprzestrzeniania się różnych typów znaczników, przeprowadzona na poziomach tkankowym i komórkowym, wykazała, że oba szlaki transportowe – zarówno symplastowy jak i apoplastowy mogą funkcjonować u badanych mchów. Dzięki obecności żywych komórek miększu przewodzącego możliwy jest krótkodystansowy transport symplastowy, a biorąc pod uwagę powszechność występowania komórek miększu przewodzącego u mchów [25,28], można uznać ten szlak transportu za podstawowy mechanizm endohydrycznego rozprowadzania związków w łądźkach gametofitowych. Natomiast obecność hydroidów, dzięki którym możliwy jest długodystansowy transport w obrębie apoplastu, istotnie zwiększa efektywność transportu wewnętrznego, szczególnie w warunkach obniżonej wilgotności. Dzięki temu możliwe jest zwiększenie tolerancji ekologicznej i funkcjonowanie mchów także w suchszych siedliskach.

Kolejnym moim osiągnięciem naukowym, opublikowanym w czasopiśmie *Plant Biology* [P5], było opracowanie nowego narzędzia badawczego, które umożliwia analizy *in situ* szlaków transportu jednego z ważniejszych hormonów roślinnych czyli auksyny na poziomach tkankowym i komórkowym. Auksyna odgrywa istotną rolę w licznych procesach fizjologicznych i rozwojowych, takich jak np. wzrost i różnicowanie komórek [46,47], embriogeneza [48,49], organogeneza [50,51], różnicowanie tkanek przewodzących [52,53] czy reakcja roślin na światło i siłę grawitacji [54,55]. W procesach tych kluczowy aspekt działania auksyny nie opiera

się wyłącznie na samej jej obecności w danej tkance czy organie, ale na formowaniu unikalnego wzoru przestrzennego rozmieszczenia tego hormonu z lokalnymi obszarami podwyższonego stężenia, które często stanowią pierwszy etap wyzwalający odpowiedź biologiczną. Do pełnego zrozumienia mechanizmów działania auksyny niezbędne jest poznanie wszystkich szlaków transportu tego hormonu w roślinach. Opracowanie przeze mnie narzędzia badawczego, stanowiącego pod względem chemicznym koniugat cząsteczek auksyny (IAA) i wybranego znacznika fluorescencyjnego, zostało przeprowadzone w ramach projektu kierowanego przez dr Alicję Banasiak pt. „Alternatywny szlak akropetalnego transportu auksyn i jego znaczenie dla organogenezy podczas rozwoju pędu *Arabidopsis thaliana*”, finansowanego przez MNiSW. W trakcie prowadzonych przeze mnie analiz i eksperymentów otrzymałam dwa różne koniugaty: poprzez przyłączenie izotiocyjanianu fluoresceiny (FITC) do cząsteczki auksyny uzyskałam koniugat IAA-FITC, a po zastosowaniu izotiocyjanianu rodaminy (RITC) otrzymałam koniugat IAA-RITC. Po przeprowadzeniu reakcji syntezy, największym wyzwaniem było opracowanie właściwej metodyki oczyszczania koniugatów od nieprzereagowanych substratów z wykorzystaniem filtracji żelowej na podłożu Sephadex oraz ich precyzyjnej identyfikacji w zebranych frakcjach, poprzez zastosowanie metod spektrofotometrycznych (pomiar absorpcji) i reakcji z odczynnikami van URK Salkowskiego. Szczegółowa analiza widm UV-VIS koniugatów IAA-FITC i IAA-RITC wykazała obecność wyraźnych różnic (przesunięcie widma w regionie 300nm, wyższa absorbancja w regionie 250 nm) w porównaniu do widm UV-VIS roztworów wolnej auksyny, barwników FITC i RITC oraz mieszanin auksyny i danego znacznika fluorescencyjnego, co pozwoliło jednoznacznie zidentyfikować uzyskane produkty. Dodatkowo, testy porównawcze widm UV-VIS potwierdziły stabilność koniugatów w temperaturze pokojowej w okresie 7 dni. Efektem przeprowadzenia wszystkich wspomnianych powyżej analiz i eksperymentów było uzyskanie koniugatów IAA-FITC oraz IAA-RITC, których przydatność eksperymentalną sprawdzono następnie w testach biologicznych, wykorzystując roślinę modelową *Arabidopsis thaliana*. Otrzymane koniugaty wykazywały podobną do wolnej auksyny aktywność biologiczną oraz dystrybucję w tkankach, co potwierdza ich użyteczność w badaniach dotyczących roli auksyny i jej szlaków transportowych w procesach rozwojowych u roślin. Przyłączenie do auksyny dwóch różnych znaczników, o odmiennych wartościach fal wzbudzenia i emisji, istotnie rozszerzyło potencjalny zakres zastosowania koniugatów, także do złożonych układów eksperymentalnych i analiz kolokalizacji różnych sygnałów fluorescencyjnych. Warto zaznaczyć, że opisywane koniugaty mogą być wykorzystywane w badaniach różnych gatunków roślin, nie tylko modelowych, niezależnie od ich pozycji systematycznej oraz modyfikacji na poziomie genetycznym. Podsumowując, koniugaty IAA-FITC oraz IAA-RITC stanowią cenne i przydatne narzędzie badawcze, o szerokim zastosowaniu, które pozwala analizować szlaki transportu krótko- i długodystansowego auksyny, jednego z ważniejszych endogennych czynników regulujących procesy fizjologiczne i rozwojowe u roślin.

Podsumowanie

Prowadzone przeze mnie badania, stanowiące osiągnięcie naukowe, koncentrowały się na poznaniu specyfiki szlaków transportu krótko – i długodystansowego u roślin lądowych. Wyniki moich badań udowodniły obecność i funkcjonalność nowego mechanizmu transportu związków z martwych naczyń do żywych komórek przynaczyniowych, który przebiega na drodze endocytozy zależnej i niezależnej od klatryny oraz wykazały znaczenie transportu symplastowego w rozprowadzaniu związków przez plazmodesmy w trójwymiarowym systemie

żywych komórek miękiszu drzewnego u wybranych gatunków drzew liściastych. Z kolei analizy rozprzestrzeniania się znaczników fluorescencyjnych w gametofitach mchów dowiodły obecności i funkcjonalności krótko- i długodystansowego transportu endohydrycznego u roślin, które powszechnie uważane są za gatunki wyłącznie ektohydryczne. Dodatkowo, wykazałam, iż możliwość transportu wewnętrznego zwiększa stopień adaptacji mchów do niekorzystnych warunków środowiskowych. Natomiast opracowywanie nowoczesnych narzędzi badawczych polegające na przyłączaniu znaczników fluorescencyjnych do ważnych, endogennych czynników, np. do auksyny, otwiera nowe drogi wizualizacji szlaków transportu krótko- i długodystansowego hormonów roślinnych i pozwala lepiej zrozumieć procesy fizjologiczne oraz rozwojowe regulujące funkcjonowanie organizmów roślinnych.

Główne osiągnięcia cyklu habilitacyjnego:

- 1) udowodnienie funkcjonowania transportu symplastowego w przestrzennym układzie żywych komórek miękiszowych drewna wtórnego u wybranych gatunków drzew liściastych
- 2) wskazanie znaczenia żywych komórek miękiszu drzewnego w transporcie związków w drewnie wtórnym oraz w regulacji funkcjonowania organizmów drzewiastych
- 3) odkrycie nowego mechanizmu transportu związków w kierunku radialnym z naczyń do komórek miękiszu przynacyniowego u drzew liściastych, który przebiega na zasadzie endocytozy, szlakami zależnymi i niezależnymi od klatryny
- 4) wykazanie obecności oraz funkcjonalności transportu endohydrycznego przebiegającego w obrębie symplastu i apoplastu u wybranych gatunków mchów, które są powszechnie uznawane za organizmy ektohydryczne
- 5) opracowanie nowego narzędzia badawczego – koniugatów auksyny z przyłączonymi barwnikami fluorescencyjnymi, które umożliwia analizę szlaków transportu krótko- i długodystansowego auksyny na poziomach tkankowym i komórkowym u roślin.

Plany naukowe

W nadchodzących latach zamierzam kontynuować badania prowadzące do pełniejszego zrozumienia mechanizmów transportu związków na granicy apoplastu i symplastu w drewnie wtórnym, m.in. ich sezonowych zmian analizowanych na poziomach komórkowym i molekularnym, udziału transporterów błonowych w pobieraniu związków z naczyń czy wpływu potencjalnych modulatorów aktywności endocytozy (np. związków cukrowych). W kręgu moich zainteresowań pozostanie nadal mechanizm transportu symplastowego w drewnie wtórnym, a przede wszystkim określenie, w jaki sposób związki pobierane przez komórki miękiszu przynacyniowego na drodze endocytozy są dalej rozprowadzane przez plazmodesmy. Mam nadzieję, że eksperymenty opierające się m.in. na immunodetekcji aplikowanych do roślin związków na poziomie ultrastrukturalnym z wykorzystaniem TEM pozwolą rozwiązać problem współdziałania systemu endomembranowego z plazmodesmami w transporcie międzykomórkowym w drewnie wtórnym. Równocześnie planuję kontynuować analizy związane z transportem endohydrycznym u mchów i wyjaśnić, na jakiej zasadzie woda oraz substancje pokarmowe są transportowane z gametofitu do rozwijającego się sporofitu. Wiadomo, że w procesie tym

uczestniczą komórki transferowe występujące na kontakcie gametofitu i sporofitu, jednakże mechanizm tego transportu nadal pozostaje nieznan.

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. Te dodatkowe działania naukowe zaowocowały opublikowaniem do tej pory jedenastu prac. Dorobek ten obejmuje osiem anglojęzycznych artykułów oryginalnych oraz trzy prace napisane w języku polskim. Publikacje te były w większości recenzowane oraz 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 **21.224**, a suma punktów zgodnie z aktualnym systemem punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) (wg listy z dnia 26.01.2017 r.) wynosi **262**. Prace w moim dorobku dotyczą różnych aspektów, związanych ze zjawiskami izolacji i łączności symplastowej, funkcjonowaniem organizmów drzewiastych, merystemów wierzchołkowych oraz wpływem metali ciężkich na rośliny. W moim dorobku można znaleźć artykuły opublikowane we współpracy z naukowym ośrodkiem w Szwecji: Umeå Plant Science Centre oraz z jednostkami krajowymi: Wydziałem Biotechnologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydziałem Biotechnologii oraz Katedrą Ekologii, Biogeochemii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Wrocławskiego.

Inne prace naukowe nie związane z cyklem habilitacyjnym:

- 1) **Sokołowska K.** 2005. Regulacja łączności symplastowej w procesach wzrostu i rozwoju roślin. *Post. Biol. Kom.* 32(4): 603-616.
- 2) **Sokołowska K***, Zagórska-Marek B. 2007. Seasonal changes in the degree of symplasmic continuity between the cells in cambial region of *Acer pseudoplatanus* and *Ulmus minor*. *Acta Soc. Bot. Pol.* 76: 277-286 (IF 0.24, MNiSW 25). * autor korespondencyjny.
- 3) **Sokołowska K***, Brysz AM, Zagórska-Marek B. 2013. Spatial pattern of long-distance symplasmic transport and communication in trees. *Plant Signal. Behav.* 8:11, e26191. * autor korespondencyjny.
- 4) Zawadzki K, **Sokołowska K**, Samecka-Cymerman* A, Kolon K, Dubińska A, Kempers AJ. 2014. Mercury in *Pleurozium schreberi* and *Polytrichum commune* from areas with various levels of Hg pollution – an accumulation and desorption experiment with microscopic observations. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 108: 36-41 (IF 2.762, MNiSW 30). * autor korespondencyjny.
- 5) **Sokołowska K.** 2015. Komunikacja symplastowa w drewnie. *Kosmos* 308: 445-456. (MNiSW 12)
- 6) Dolzblasz A*, Smakowska E, Gola EM, **Sokołowska K**, Kicia M, Janska H*. 2016. The mitochondrial protease AtFTSH4 safeguards Arabidopsis shoot apical meristem function. *Sci. Rep.* 6(28315): 1-14 (IF 4.259, MNiSW 40). * autor korespondencyjny.

- 7) Cegłowska A, **Sokołowska K**, Samecka-Cymerman A*, Kolon K, Jusik S, Kempers AJ. 2016. Copper and zinc in *Elodea canadensis* from rivers with various pollution levels. *Ecol. Indic.* 67: 156-165 (IF 3.190, MNiSW 35). * autor korespondencyjny.
- 8) Blokhina O, Valerio C, **Sokołowska K**, Zhao L, Kärkönen A, Niittylä T*, Fagerstedt KV* 2017. Laser capture microdissection protocol for xylem tissues of woody plants. *Front. Plant Sci* 7: 1965 (IF 4.298, MNiSW 40). * autor korespondencyjny.
- 9) Myśkow E, **Sokołowska K**. (red.) 2017. Co gryzie kasztanowce? Wpływ szrotówka kasztanowcowiaczka na fenologię i rozwój drzew. Wydawnictwo i Drukarnia Triada Sp. z o. o., ISBN: 978-83-61777-72-4 (MNiSW 15).
- 10) Dolzblasz A*, Gola EM, **Sokołowska K**, Smakowska-Luzan E, Twardawska A, Janska H. 2018. Impairment of meristem proliferation in plants lacking the mitochondrial protease AtFTSH4. *Int. J. Mol. Sci.* 19: 853. (IF 3.687, MNiSW 30). * autor korespondencyjny.
- 11) Zagórska-Marek B*, **Sokołowska K**, Turzańska M. 2018. Chiral events in developing gametophores of *Physcomitrella patens* and other moss species are driven by an unknown, universal direction-sensing mechanism. *Am. J. Bot.* 105: 1-9 (IF 2.788, MNiSW 35). * autor korespondencyjny.

Rola zjawisk izolacji i łączności symplastowej u roślin

Sokołowska K. 2005. Regulacja łączności symplastowej w procesach wzrostu i rozwoju roślin. *Post. Biol. Kom.* 32(4): 603-616.

Sokołowska K*, Zagórska-Marek B. 2007. Seasonal changes in the degree of symplasmic continuity between the cells in cambial region of *Acer pseudoplatanus* and *Ulmus minor*. *Acta Soc. Bot. Pol.* 76: 277-286. * autor korespondencyjny.

Sokołowska K*, Brysz AM, Zagórska-Marek B. 2013. Spatial pattern of long-distance symplasmic transport and communication in trees. *Plant Signal. Behav.* 8:11, e26191. * autor korespondencyjny.

Plazmodesmy regulują procesy komunikacji międzykomórkowej u roślin oraz decydują o intensywności i kierunkach transportu symplastowego. Ich znaczenie, a także rola zjawisk łączności i izolacji symplastowej w rozwoju roślin zostały scharakteryzowane w pracy przeglądowej opublikowanej w *Postęпах Biologii Komórki* (Sokołowska, 2005). O występowaniu łączności symplastowej mówimy, kiedy rozprzestrzenianie się związków przez plazmodesmy zachodzi w sposób swobodny i nieograniczony. Poziom łączności symplastowej może być regulowany poprzez zmiany stanów konformacyjnych plazmodesm i przejście ze stanu otwartego, pozwalającego na rozprzestrzenianie się związków mieszczących się w obrębie wartości granicznej plazmodesm (ang. *size exclusion limit*, SEL) do stanu rozszerzonego, umożliwiającego transport związków wielkocząsteczkowych, przekraczających wartość SEL. Równocześnie, stopień łączności symplastowej może ulegać obniżaniu, prowadząc do czasowej lub trwałej blokady transportu czyli do tzw. izolacji symplastowej. Pojawienie się izolacji symplastowej często jest ściśle powiązane z rozpoczęciem przez komórkę lub grupę komórek procesów różnicowania. Zamknięcie plazmodesm hamuje wymianę potencjalnych czynników regulatorowych, dzięki czemu realizacja odrębnych ścieżek rozwojowych w sąsiadujących komórkach może przebiegać w prawidłowy sposób. Natomiast komórki niezróżnicowane albo te, które realizują ten sam program rozwojowy, znajdują się często w stanie łączności symplastowej. Dobrym przykładem

ilustrującym znaczenie procesów izolacji i łączności symplastowej w funkcjonowaniu struktur roślinnych są merystemy wierzchołkowe pędu roślin okrytozalążkowych, w których wyróżnia się cztery obszary izolowane symplastowo od siebie. Blokada transportu związków przez plazmodesmy przypuszczalnie zachowuje odrębność funkcjonalną komórek pełniących odmienne funkcje w merystemie (komórki strefy peryferycznej vs. komórki strefy centralnej) lub charakteryzujących się inną specyfiką podziałów komórkowych (komórki tuniki vs komórki korpusu).

Izolacja symplastowa odgrywa również ważną rolę w kambium – merystemie bocznym, który produkuje wtórne tkanki przewodzące i jest odpowiedzialny za przyrost roślin na grubość. Kambium u roślin drzewiastych zawiera dwa typy komórek – inicjały promieniowe oraz wrzecionowate, które różnią się od siebie kształtem, intensywnością podziałów oraz pełnią funkcję. Podziały peryklinalne inicjałów promieniowych prowadzą głównie do wytworzenia promieni drzewnych i łykowych, natomiast inicjały wrzecionowate są odpowiedzialne za powstanie wszystkich elementów przewodzących, wzmacniających oraz miękiszowych układu osiowego tkanek wtórnych. W czasie prowadzonych przeze mnie badań nad transportem symplastowym w kambium u drzew odkryłam, że stopień łączności symplastowej w tej tkance podlega sezonowym zmianom. Dowiodłam, że inicjały wrzecionowate i promieniowe w kambium aktywnym, preparowanym w czasie sezonu wegetacyjnego, są izolowane symplastowo od siebie. Aplikowane do roślin barwniki symplastowe były lokalizowane głównie w inicjałach wrzecionowatych, natomiast promienie kambialne przeważnie nie wykazywały obecności znacznika. Natomiast w okresie spoczynku zimowego barwniki symplastowe obecne były zarówno w inicjałach wrzecionowatych jak i promieniowych, wskazując na funkcjonowanie łączności symplastowej w kambium spoczynkowym. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* (Sokołowska i Zagórska-Marek, 2007). Mój wkład w powstanie tej pracy obejmował współpracę w zaplanowaniu układu eksperymentalnego, wykonanie wszystkich doświadczeń oraz współdziałanie w interpretacji uzyskanych wyników i w przygotowaniu manuskryptu.

Merystem kambialny u drzew stanowi tkankę o bardzo dużej powierzchni, w której przestrzenne zjawiska o charakterze cyklicznym, takie jak fala auksynowa [56] czy struktura domenowa ([57,58], stanowią jedno z kluczowych cech tego merystemu. Dlatego też podjęłam się badań, w ramach których prowadziłam analizy porównawcze stopnia łączności symplastowej komórek w kambium aktywnym preparowanym z różnych odległości od miejsca podania znacznika do rośliny. Dzięki tym analizom wykazałam, że stopień łączności symplastowej w kambium aktywnym podlega przestrzennym i cyklicznym zmianom. Obszary, w których znaczniki symplastowe były zlokalizowane głównie w inicjałach wrzecionowatych występowały naprzemiennie z obszarami, w których fluorochromy obecne były w symplacie obu typów inicjałów kambialnych. Sugeruje to funkcjonowanie dodatkowego, nieznanego dotychczas mechanizmu, który reguluje stany konformacyjne plazmodesm w kambium na poziomie ponadkomórkowym. Ponadto, dzięki analizom z wykorzystaniem fluoresceiny związanej, lokalnie aktywowanej w wybranych typach komórek, wykazałam, że transport symplastowy związków w kambium aktywnym przebiega jednokierunkowo, przeważnie z inicjałów promieniowych do wrzecionowatych. Natomiast w kambium spoczynkowym, szczególnie w spoczynku zimowym bezwzględny, rozprzestrzenianie się fluorochromów pomiędzy inicjałami promieniowymi i wrzecionowatymi odbywa się dwukierunkowo. Równocześnie dowiodłam, że obecność izolacji symplastowej w kambium aktywnym nie jest wynikiem zwiększonej akumulacji kalozy w regionie plazmodesm występujących na kontakcie

komórek wrzecionowatych i promieniowych. Powyższe wyniki zostały opisane w pracy doktorskiej oraz wykorzystane do przygotowania dwóch artykułów opublikowanych w *American Journal of Botany* (Sokołowska i Zagórska-Marek 2012) oraz w *Plant Signaling & Behavior* (Sokołowska i in., 2013). W obu pracach brałam istotny udział w zaplanowaniu układów eksperymentalnych, wykonywaniu doświadczeń, interpretacji wyników oraz w przygotowaniu manuskryptu. Ponadto, chciałabym podkreślić, że artykuł opublikowany w *Am. J. Bot.* prezentuje nie tylko wyniki uzyskane w trakcie pracy doktorskiej, ale przede wszystkim osiągnięcia uzyskane po doktoracie, związane z transportem symplastowym w drewnie wtórnym, dlatego został on dołączony do cyklu habilitacyjnego [P1].

Funkcjonowanie organizmów drzewiastych

Sokołowska K. 2015. Komunikacja symplastowa w drewnie. *Kosmos* 308: 445-456.

Blokhina O, Valerio C, **Sokołowska K**, Zhao L, Kärkönen A, Niittylä T*, Fagerstedt KV* 2017. Laser capture microdissection protocol for xylem tissues of woody plants. *Front. Plant Sci.* 7: 1965. * autor korespondencyjny.

Myśkow E, **Sokołowska K.** (red.) 2017. Co gryzie kasztanowce? Wpływ szrotówka kasztanowcowiaczka na fenologię i rozwój drzew. Wydawnictwo i Drukarnia Triada Sp. z o. o., ISBN: 978-83-61777-72-4.

Poznanie struktury drewna wtórnego oraz mechanizmów regulujących procesy powstawania i różnicowania poszczególnych typów komórkowych jest niezbędne do zrozumienia funkcjonowania organizmów drzewiastych. Drewno wtórne jest tkanką heterogenną, zbudowaną z różnych typów komórek takich jak elementy trachealne, odpowiedzialne za długodystansowy transport wody, włókna drzewne zwiększające odporność mechaniczną tkanki oraz komórki miękiszu układu osiowego i radialnego, które tworzą trójwymiarowy system żywych elementów połączonych plazmodesmami. Struktura miękiszu drzewnego, charakterystyka jego wybranych funkcji, a także specyfika transportu symplastowego w drewnie wtórnym oraz jego rola w regulacji wybranych procesów rozwojowych u drzew zostały opisane w pracy przeglądowej opublikowanej w czasopiśmie *Kosmos* (Sokołowska 2015). We współczesnej biologii największym wyzwaniem jest jednak nie tylko poznanie samej struktury danej tkanki czy organu, ale przede wszystkim zrozumienie mechanizmu jej powstawania oraz dalszego rozwoju, również na poziomie molekularnym. Wymaga to jednak rozwinięcia nowych metod badawczych. Jedną z nich, niezwykle obiecującą, jest mikrodysekcja laserowa (ang. *laser capture microdissection*, LCM), która umożliwia wycinanie i uzyskiwanie z preparatów anatomicznych określonych regionów czy komórek, które później mogą służyć do dalszych analiz molekularnych, np. do analizy ekspresji genów. Można sądzić, że technika ta pozwoli poznać w najbliższej przyszłości molekularne i genetyczne mechanizmy regulujące procesy determinacji oraz różnicowania poszczególnych typów komórek. Dostosowanie procedury mikrowycinania do tkanek roślinnych, a szczególnie do drewna wtórnego, którego komórki charakteryzują się obecnością grubej, zlignifikowanej ściany wtórnej, stanowi jednak duże wyzwanie. W pracy metodycznej, opublikowanej w *Frontiers in Plant Science* (Blokhina i in., 2016), przedstawiono kompletną procedurę LCM, która umożliwia wycinanie różnych typów komórek różnicującego się drewna wtórnego oraz efektywną izolację z nich RNA o wysokiej jakości. Protokół dostosowano do trudnego materiału, jakim jest drewno wtórne oraz przetestowano na przedstawicielach drzew iglastych

(*Picea abies*) i liściastych (*Populus tremula*). Dzięki zastosowaniu metod mrożeniowych oraz przechowywaniu i suszeniu preparatów anatomicznych w postaci tzw. szklanej kanapki (ang. *glass sandwich*), która zapobiega zwijaniu i fałdowaniu się przekrojów, znacząco skrócono czas przygotowania materiału do mikrodysekcji. Uzyskano w ten sposób wysoką efektywność samej izolacji RNA oraz jakość uzyskiwanego produktu. Mój wkład w powstanie tej publikacji obejmował dopracowywanie procedury przygotowywania drewna topoli do LCM, mikrowycinaniu komórek z przekrojów radialnych oraz izolacji z nich RNA. Pełniłam również znaczącą rolę w przygotowaniu manuskryptu.

Rośliny drzewiaste są nieustannie poddawane działaniu czynników biotycznych, które przeważnie wywierają negatywny wpływ na ich funkcjonowanie. Jednym ze szkodników, który intensywnie atakuje drzewa z rodzaju *Aesculus*, przede wszystkim kasztanowca białego, jest szrotówek kasztanowcowiaczek (*Cameraria ohridella*). Gąsienice tego motyla wgrzają się w głąb blaszki liściowej, prowadząc do zamierania tkanek i tworzenia podłużnych, brunatnych plam. Intensywne żerowanie owada może z czasem skutkować zasychaniem i zrzucaniem całych liści, a w skrajnych przypadkach ponownym kwitnieniem kasztanowców pod koniec sezonu wegetacyjnego. Szkody w ulistnieniu istotnie ograniczają ilość substancji zapasowych gromadzonych jesienią przez drzewa, co obniża ich szanse na przetrwanie okresu zimowego oraz wznowienie aktywności w kolejnym sezonie wegetacyjnym. W książce pt. „Co gryzie kasztanowce? Wpływ szrotówka kasztanowcowiaczka na fenologię i rozwój drzew” scharakteryzowano najpopularniejsze gatunki i odmiany kasztanowców oraz zmiany fenologiczne, jakim podlegają one w ciągu roku. Wyjaśniono, w jaki sposób drzewa przyrastają na grubość, opisano wpływ szrotówka na ich funkcjonowanie oraz przedstawiono sposoby ochrony kasztanowców, a także wybrane metody stosowane w biologii drzew. Książka, której jestem współredaktorem i współautorem, to bogato ilustrowana pozycja napisana w sposób przystępny i zrozumiały dla osób nieposiadających specjalistycznej wiedzy, dzięki czemu stanowi kompendium wiedzy dla szerokiego grona odbiorców, szczególnie uczniów i nauczycieli. Została ona rozesłana do ponad 500 placówek edukacyjnych w Polsce i stanowi efekt realizacji dotacji, którą uzyskała dr Elżbieta Myśkow z Wojewódzkiego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej.

Funkcjonowanie roślinnych merystemów wierzchołkowych

Dolzblasz A*, Smakowska E, Gola EM, **Sokołowska K**, Kicia M, Janska H*. 2016. The mitochondrial protease AtFTSH4 safeguards Arabidopsis shoot apical meristem function. *Sci. Rep.* 6(28315): 1-14. * autor korespondencyjny.

Dolzblasz A*, Gola EM, **Sokołowska K**, Smakowska-Luzan E, Twardawska A, Janska H. 2018. Impairment of meristem proliferation in plants lacking the mitochondrial protease AtFTSH4. *Int. J. Mol. Sci.* 19: 853. * autor korespondencyjny.

Zagórska-Marek B*, **Sokołowska K**, Turzańska M. 2018. Chiral events in developing gametophores of *Physcomitrella patens* and other moss species are driven by an unknown, universal direction-sensing mechanism. *Am. J. Bot.* 105: 1-9. * autor korespondencyjny.

Intensywnie dzielące się komórki merystemów wierzchołkowych pędu (ang. *shoot apical meristem*, SAM) oraz korzeni (ang. *root apical meristem*, RAM) odpowiedzialne są za tworzenie komórek potomnych i formowanie nadziemnych oraz podziemnych organów roślinnych, odgrywając kluczową rolę podczas procesów wzrostu i rozwoju roślin. Utrzymanie tożsamości komórek inicjalnych oraz równowagi pomiędzy tworzeniem zawiązków organów

bocznych a samoodtworzeniem się merystemu jest ściśle regulowane na poziomie molekularnym, co zapewnia prawidłowe funkcjonowanie merystemów wierzchołkowych. Badania prowadzone w ramach projektu pt. „Mechanizmy zahamowania rozwoju merystemu apikalnego pędu u mutantu *ftsh4 Arabidopsis thaliana*” kierowanego przez dr Alicję Dołzblasz (grant SONATA finansowany przez Narodowe Centrum Nauki) były realizowane we współpracy z Panią prof. dr hab. Hanną Jańską z Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego, a ich bezpośrednim efektem są dwa artykuły oryginalne opublikowane w renomowanych czasopismach: *Scientific Reports* (Dolzblasz i in., 2016) oraz *International Journal of Molecular Sciences* (Dolzblasz i in. 2018). Wiadomo, że kodowana przez gen *FTSH4* proteaza mitochondrialna zapobiega akumulacji wewnętrznego stresu oksydacyjnego i umożliwia prawidłowe funkcjonowanie mitochondriów w niekorzystnych warunkach środowiskowych [59,60]. Analizowany mutant *ftsh4* charakteryzuje się interesującym fenotypem zahamowania rozwoju pędu generatywnego w specyficznych warunkach temperatury 30°C. Prowadzone w ramach opisywanego projektu badania na poziomie molekularnym i komórkowym wykazały interesujące zależności pomiędzy prawidłowym funkcjonowaniem mitochondriów oraz mechanizmami odpowiedzialnymi za utrzymanie aktywności merystemów wierzchołkowych w warunkach podwyższonej temperatury. Dzięki zastosowaniu markerów fluorescencyjnych *in vivo*, qRT-PCR i technik biochemicznych udowodniono, że aktywność SAM u mutantu *ftsh4* ulega zahamowaniu co spowodowane jest m.in. akumulacją wewnętrznego stresu oksydacyjnego oraz dysfunkcją mitochondriów w dojrzałym merystemie wegetatywnym pędu, w miejscu gdzie zlokalizowane są komórki inicjalne (Dolzblasz i in., 2016). Aby lepiej zrozumieć mechanizm odpowiedzialny za utratę potencjału merystematycznego u mutantu *ftsh4* wyprowadzono odpowiednie linie transgeniczne, w których gen reporterowy *GUS* ulegał ekspresji z promotorów genów merystematycznych (*CLV3*, *STM*, *WOX5*) oraz genów związanych z cyklem komórkowym (*CYCB1*, *CYCD3*;1). Dzięki temu możliwe było prześledzenie zmian rozwojowych i wykazanie, że podwyższona temperatura negatywnie oddziałuje na procesy związane z utrzymaniem tożsamości i aktywności podziałowej komórek inicjalnych (Dolzblasz i in., 2018). W ramach opisywanego projektu analizowano również wpływ podwyższonej temperatury na funkcjonowanie merystemu wierzchołkowego korzenia. Wzrost korzeni mutantu *ftsh4* w warunkach podwyższonej temperatury 30°C przebiegał wolniej w porównaniu do roślin typu dzikiego, co spowodowane było m.in. zaburzeniem tożsamości merystematycznej oraz proliferacji komórek inicjalnych w korzeniu. Chociaż dysfunkcja mitochondriów w RAM nie była tak silna jak w SAM, wyniki prowadzonych badań wykazały, że w warunkach podwyższonej temperatury obecność funkcjonalnego genu *FTSH4* jest niezbędna do utrzymania tożsamości komórek inicjalnych i ich proliferacji w merystemach wierzchołkowych, a mechanizmy zabezpieczające utrzymanie i prawidłowe funkcjonowanie merystemów mają kluczowe znaczenie dla niezakłóconego wzrostu roślin (Dolzblasz i in., 2016; 2018). Mój udział w realizacji opisywanego projektu polegał na współpracy przy analizach dotyczących funkcjonalności merystemów prowadzonych z wykorzystaniem mikroskopu konfokalnego, przygotowywaniu przekrojów anatomicznych na wibratomie w celu przeprowadzenia tkankowej wizualizacji markera *GUS* oraz w przygotowaniu figur do obu publikacji.

W merystemach wierzchołkowych zarówno intensywność podziałów komórkowych jak również orientacja płaszczyzny podziałowej podlegają ścisłej kontroli. U mchów, przedstawicieli pierwszych roślin lądowych, rozwój ulistnionej łodyżki gametoforu następuje w wyniku aktywności podziałowej pojedynczej, tetraedrycznej komórki inicjalnej (ang. *apical cell*, AC), zlokalizowanej na szczycie merystemu wierzchołkowego, a układ listków, czyli ich

filotaksja, bezpośrednio zależy od sposobu podziałów AC. W artykule opublikowanym w *American Journal of Botany* (Zagórska-Marek i in., 2018) analiza zdarzeń chiralnych podczas rozwoju różnych gatunków mchów stała się punktem wyjścia do poszukiwań uniwersalnego mechanizmu rozpoznającego określony kierunek w procesach rozwojowych, szczególnie w trakcie wzrostu i rozgałęziania się gametoforów. U większości analizowanych przez nas mchów, w trakcie kolejnych podziałów AC, nowo powstające ściany komórkowe są nachylone pod pewnym kątem w stosunku do ścian bocznych. Powoduje to, że kolejno odkładane przez AC merofity są obwodowo przesunięte, a powstające listki ułożone są wzdłuż skręconych pierwotnych ortostych (pionowe linie łączące nadległe liście) w kierunku zgodnym lub przeciwnym do ruchu wskazówek zegara. Jedynym wyjątkiem są merystemy *Fontinalis antipyretica*, w których kolejne podziały AC są zawsze równoległe do ścian bocznych, czego efektem jest regularne ułożenie listków na łodyżkach wzdłuż trzech ortostych. Prowadzone analizy sekwencji podziałowych komórek inicjalnych u *Physcomitrella patens*, *Atrichum undulatum* oraz *Polytrichum commune* dowiodły, że nachylenie ścian podziałowych w AC nigdy nie jest losowe, ale zawsze przebiega w taki sposób, aby zminimalizować płaszczyznę kontaktu kolejno odcinanych merofitów. Ścisłą kontrolę orientacji podziałów AC odzwierciedlają również zdarzenia kierunkowe przebiegające w osiach głównych i bocznych rozgałęziających się łodyżek gametoforowych analizowanych gatunków *P. patens*, *P. commune*, *A.undulatum* oraz *Pleurozium schreberi*. Prowadzone badania wykazały, że chiralność ułożenia listków na osiach głównych jest przeciwna (antydyromiczna) do kierunku ułożenia listków na osiach bocznych. Mechanizm, który kontroluje chiralność podziałów AC oraz zależny od niej kierunek nachylenia pierwotnych ortostych w osiach głównych i bocznych nadal pozostaje nieznanym. Przypuszczalnie może on zależeć od horyzontalnej asymetrii sygnałów (prawdopodobnie o charakterze cukrowym), których źródłem są ułożone trichistycznie listki gametoforowe (Zagórska-Marek i in., 2018). Mój udział w powstanie prezentowanej pracy polegał na współpracy w wykonywaniu eksperymentów, przeprowadzeniu analizy statystycznej oraz przygotowaniu ilustracji do manuskryptu.

Wpływ metali ciężkich na zdolności akumulacyjne oraz funkcjonowanie żywych komórek u wybranych gatunków roślin

Zawadzki K, **Sokołowska K**, Samecka-Cymerman* A, Kolon K, Dubińska A, Kempers AJ. 2014. Mercury in *Pleurozium schreberi* and *Polytrichum commune* from areas with various levels of Hg pollution – an accumulation and desorption experiment with microscopic observations. *Ecotoxicol Environ Saf* 108: 36-41, * autor korespondencyjny.

Cegłowska A, **Sokołowska K**, Samecka-Cymerman A*, Kolon K, Jusik S, Kempers AJ. 2016. Copper and zinc in *Elodea canadensis* from rivers with various pollution levels. *Ecol. Ind.* 67: 156-165. * autor korespondencyjny.

Organizmy roślinne są nieustannie poddawane działaniu niekorzystnych czynników, w tym również wpływowi metali ciężkich, jednak dzięki wykształceniu mechanizmów regulujących pobieranie, akumulację i usuwanie jonów metali z komórek [61] rośliny są w stanie funkcjonować w zanieczyszczonym środowisku. Analiza zawartości metali ciężkich w materiale roślinnym pozwala określić możliwości akumulacyjne badanych gatunków, co jest istotne pod kątem ich potencjalnego wykorzystania jako bioindykatorów oraz przy fitoremediacji. Powiązanie poziomu akumulacji metali ciężkich z budową anatomiczną organów, a także z wpływem analizowanych związków na żywotność komórek, pozwala lepiej

zrozumieć drogi rozprzestrzeniania się metali ciężkich w środowisku oraz sposób ich oddziaływania na organizmy żywe.

W opisywanym projekcie kierowanym przez Panią prof. dr hab. Aleksandrę Samecką-Cymerman z Katedrą Ekologii, Biogeochemii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Wrocławskiego analizowano możliwości akumulacyjne rtęci, cynku i miedzi u wybranych gatunków mchów (*Pleurozium schreberi*, *Polytrichum commune*) oraz wodnej rośliny okrytozalążkowej (*Elodea canadensis*), a także określano wpływ badanych metali na żywotność komórek w zależności od stężenia oraz czasu ekspozycji analizowanego czynnika. Efektem realizacji projektu są dwie prace oryginalne opublikowane w czasopiśmie: *Ecotoxicology and Environmental Safety* (Zawadzki i in., 2014) oraz *Ecological Indicators* (Cegłowska i in., 2016). W artykułach tych wykazano, że badane gatunki pobierane z regionów bardziej zanieczyszczonych były w stanie akumulować większe ilości szkodliwych metali w porównaniu do roślin pochodzących z obszarów kontrolnych, w których poziom zanieczyszczenia środowiska był istotnie niższy. Świadczy to o znacznych możliwościach adaptacyjnych roślin do niekorzystnych warunków siedliskowych. Podczas analiz wpływu rtęci na badane gatunki mchów wykazano znacznie wyższą akumulację tego metalu u *P. commune* niż u *P. schreberi* (Zawadzki i in., 2014), co prawdopodobnie wynikało z mniejszego zagęszczenia osobników *P. commune* w populacjach oraz obecności charakterystycznych lamelli zwiększających powierzchnię chłonną listków. Natomiast analizy mikroskopowe listków *P. schreberi* wykazały zwiększenie przepuszczalności błony komórkowej, a następnie zmiany w morfologii organelli, przede wszystkim jądra komórkowego, co ostatecznie prowadziło do obumierania komórek. Prowadzone doświadczenia dowiodły również zaskakującej odporności mchów na szkodliwy wpływ rtęci, gdyż pierwsze negatywne objawy odnotowano dopiero po 16 dniach od wystawienia *P. schreberi* na działanie tego metalu. Natomiast, aby lepiej zrozumieć mechanizm negatywnego oddziaływania miedzi i cynku na rośliny wodne, przeprowadzono analizy na poziomie komórkowym, wykorzystując materiał roślinny pobierany z rzek zanieczyszczonych (Cegłowska i in., 2016). Oba metale, aplikowane pojedynczo oraz w mieszaninie w różnych stężeniach, obniżały żywotność komórek mezofilu liści *E. canadensis* oraz zwiększały przepuszczalność błon komórkowych. Miedź dodatkowo negatywnie oddziaływała na chloroplasty, prowadząc do powstania agregatów tych organelli w cytoplazmie. Co ciekawe, obecność cynku w mieszaninie aplikacyjnej (Zn+Cu) obniżała toksyczne działanie samej miedzi. Mój udział w opisywanym projekcie polegał na współudziale w zaplanowaniu układu eksperymentalnego testującego wpływ metali ciężkich na żywotność komórek, w wykonywaniu analiz mikroskopowych i w interpretacji uzyskanych wyników. Brałam również udział w przygotowaniu manuskryptu.

Oprócz wymienionych i opisanych wyżej prac oryginalnych, przeglądowych oraz opracowania monograficznego, wyniki moich badań zostały dostrzeżone i docenione przez środowisko naukowe, czego efektem były zaproszenia do ustnych prezentacji typu *short talk* na konferencji PTBER (2017r., Białystok, Polska) oraz Plant Vascular Biology (2010r., Columbus, Ohio, USA) wygłoszenie seminarium w Department of Forest Genetics and Plant Physiology (2008r., SLU, Szwecja) oraz wyróżnienia prezentacji posterowych (2011r. i 2003r., konferencje PTBER we Wrocławiu i Olsztynie, Polska).

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*, *Annals of Botany*, *Plant Biology*, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, *Acta Physiologiae Plantarum* oraz *Kosmos*.

Co ważne, podczas mojej pracy na Uniwersytecie Wrocławskim otrzymałam grant badawczy OPUS (2016-2018) finansowany przez Narodowe Centrum Nauki (NCN) na realizację projektu pt. „Charakterystyka endocytozy i roli miękiszu drzewnego w transporcie międzykomórkowym w drewnie wtórnym u wybranych gatunków drzew liściastych”. Projekt ten umożliwił mi wyjaśnienie mechanizmu transportu związków w drewnie wtórnym oraz rozbudowanie zaplecza aparaturowego Zakładu Biologii Rozwoju Roślin w zakresie mikroskopii oraz mikrotechniki. Jako wykonawca uczestniczyłam również w dwóch projektach finansowanych przez MNiSW. Za osiągnięcia naukowe otrzymałam w 2008r. nagrodę rektorską.

Podsumowanie liczbowe aktywności naukowej

Typ publikacji	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem		
			Liczba	IF	Punkty MNiSW
Prace oryginalne					
Prace stanowiące osiągnięcie naukowe					
W czasopismach z bazy JCR	-	4	4	16,771	150
Rozdziały w monografiach	-	1	1	-	5
Razem	-	5	5	16,771	155
Pozostałe prace (bez cyklu habilitacyjnego)					
W czasopismach z bazy JCR	1	6	7	21,224	235
W czasopismach spoza bazy JCR	1	2	3	-	12
Rozdziały w monografiach	-	1	1	-	15
Razem	2	9	11	21,224	262
Redakcje					
Redakcje monografii	-	2	2	-	10
Razem	-	2	2	-	10
CAŁOŚĆ DOROBKU	4	16	18	37,995	427
Doniesienia konferencyjne krajowe i międzynarodowe (prezentacje ustne i plakatowe)	Przed doktoratem		Po doktoracie	Razem	
	4		20	24	

Impact Factor (IF) podano zgodnie z rokiem publikacji pracy; punkty MNiSW wg listy z dn. 26 stycznia 2017r.

Sumaryczny Impact Factor wg listy Journal Citation Reports (JCR) dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wynosi: **16,771**

Sumaryczna liczba punktów wg MNiSW dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wynosi: **155**

Sumaryczny Impact Factor wg listy Journal Citation Reports (JCR) dla prac pozostałych (poza cyklem prac habilitacyjnych) wynosi: **21,224**

Sumaryczna liczba punktów wg MNiSW dla prac pozostałych (poza cyklem prac habilitacyjnych) wynosi: **262**

Liczba cytowań wg Web of Science (w bazie nie są uwzględnione wszystkie prace): **60**

Liczba cytowań (bez autocytowań) wg. Web of Science: **56**

Liczba cytowań wg. Scholar Google: **104**

Indeks Hirscha wg Web of Science (w bazie nie są uwzględnione wszystkie prace): **4**

Indeks Hirscha wg Scholar Google: **6**

b. Dorobek dydaktyczny i organizacyjny

Działalność dydaktyczna stanowi istotną część mojej aktywności zawodowej. Od momentu zatrudnienia jako asystent w Zakładzie Morfologii i Rozwoju Roślin (obecnie Zakład Biologii Rozwoju Roślin) Uniwersytetu Wrocławskiego, a po doktoracie jako adiunkt, współprojektuję i prowadzę zajęcia dydaktyczne dla studentów stacjonarnych na kierunkach *Biologia* oraz *Genetyka i biologia eksperymentalna* na Wydziale Nauk Biologicznych UWr., z różnych przedmiotów, m.in. *Biologii rozwoju roślin*, *Genetyczno-molekularnych podstaw rozwoju roślin*, *Molekularnych mechanizmów komunikacji u roślin* oraz *Technik badawczych w biologii eksperymentalnej*. Opracowałam i wygłaszałam również wykład monograficzny z *Komunikacji międzykomórkowej u roślin*. Ponadto, współprojektowałam, prowadziłam lub prowadzę zajęcia dla studentów innych kierunków Uniwersytetu Wrocławskiego (*Chemia medyczna*, *Biologia człowieka*, *Biotechnologia*), w tym również wykłady w języku angielskim dla kierunku *Biotechnology*.

Podczas mojej pracy na stanowisku adiunkta kierowałam trzema pracami licencjackimi oraz czterema pracami magisterskimi. Obecnie jestem promotorem pomocniczym w przewodach dwóch uczestników studiów doktoranckich na UWr oraz opiekuję się jednym magistrantem.

W ramach promocji Wydziału Nauk Biologicznych UWr oraz popularyzacji wiedzy botanicznej kilkakrotnie brałam udział w laboratoriach, warsztatach i wystawach w ramach programów *Mój Pierwszy Uniwersytet*, *Dolnośląski Festiwal Nauki*, *Noc Biologów* oraz *Międzynarodowy Dzień Roślin (Fascination of Plants Day)*. Uczestniczyłam również w przygotowaniu zajęć oraz prowadziłam kurs doszkalający dla nauczycieli.

W ramach programu Erasmus *Teaching Staff Mobility* przygotowałam i prowadziłam w czerwcu 2014r. kurs dydaktyczny dla studentów i doktorantów na Umeå University. Obecnie

biorę udział w przygotowaniu jednego z przedmiotów, który będzie realizowany na II poziomie studiów Biologia w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój (POWER) współfinansowanego z Europejskiego Funduszu Społecznego.

Biorę udział w działalności lokalnego środowiska akademickiego angażując się w opracowywanie nowych przedmiotów dla tworzonego programu studiów *Genetyka i biologia eksperymentalna*, czy w przygotowanie wniosku o przyznanie dotacji na inwestycję w zakresie dużej infrastruktury badawczej (projekt w trakcie rozpatrywania). Od 2001 r. należę do Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin (PTBER), w latach 2009-2011 byłam członkiem Komitetu Organizacyjnego V Konferencji PTBER we Wrocławiu. Uczestniczyłam również w organizacji sesji naukowej PTBER pt. „Komunikacja symplastowa u roślin” (2006 r.) oraz w międzynarodowej, dorocznej konferencji stowarzyszenia Magnolia Society International „Magnolia Tour 2015, Polska”, która odbyła się pod patronatem Polskiego Towarzystwa Botanicznego w kwietniu 2015r. Od 2019r. jestem również członkiem Botanical Society of America.

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 RF. 2006. *Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*, 3th edn. New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.
- [2] Sowiński P. 2013. Characteristics of symplasmic transport. W: Sokołowska K, Sowiński P, (red.) *Symplasmic Transport in Vascular Plants*. New York: Springer Science+Business Media, 1-40.
- [3] Jensen KH, Berg-Sørensen K, Bruus H, Holbrook NM, Liesche J, Schulz A, Zwieniecki MA, Bohr T. 2016. Sap flow and sugar transport in plants. *Rev.Mod. Phys.* 88, 035007.
- [4] Neumann P, M. 2007. Evidence for long-distance xylem transport of signal peptide activity from tomato roots. *J. Exp. Bot.* 58: 2217–2223.
- [5] Furukawa J, Abe Y, Mizuno H, Matsuki K, Sagawa K, Kojima M, Sakakibara H, Iwai H, Satoh S. 2011. Seasonal fluctuation of organic and inorganic components in xylem sap of *Populus nigra*. *Plant Root* 5: 56-62.
- [6] Krishnan HB, Natarajan SS, Bennett JO, Sicher RC. 2011. Protein and metabolite composition of xylem sap from field-grown soybeans (*Glycine max*). *Planta* 233: 921–931.
- [7] Notaguchi M, Okamoto S. 2015. Dynamics of long-distance signaling via plant vascular tissues. *Front. Plant Sci.* 2015; 6:161.
- [8] Balachandran S., Xiang Y, Schobert C, Thompson GA, Lucas WJ. 1997. Phloem sap proteins from *Cucurbita maxima* and *Ricinus communis* have the capacity to traffic cell to cell through plasmodesmata. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 14150-14155.
- [9] Ayre BG, Keller F, Turgeon R. 2003. Symplastic continuity between companion cells and the translocation stream: long-distance transport is controlled by retention and retrieval mechanisms in the phloem. *Plant Physiol.* 131: 1518-1528.

- [10] Atkins CA. 2013. Mechanism of long-distance solute transport in phloem elements. W: Sokołowska K, Sowiński P, (red.) *Symplasmic Transport in Vascular Plants*. New York: Springer Science+Business Media, 165-181.
- [11] Kumar D, Kumar R, Hyun TK, Kim J-Y. 2013. Plasmodesmata and phloem-based trafficking of macromolecules. W: Sokołowska K, Sowiński P, (red.) *Symplasmic Transport in Vascular Plants*. New York: Springer Science+Business Media, 183-216.
- [12] Baluška F, Šamaj J, Hlavacka A, Kendrick-Jones J, Volkmann D. 2014. Actin-dependent fluid-phase endocytosis in inner cortex cells of maize root apices. *J. Exp. Bot.* 55: 463-473.
- [13] Adlassnig W, Koller-Peroutka M, Bauer S, Koshkin E, Lendl T, Lichtscheidl IK. 2012. Endocytic uptake of nutrients in carnivorous plants. *Plant J.* 71: 303-313.
- [14] Reynolds G, Wang C, Pan J, Bednarek S. 2018. Inroads into internalization: five years of endocytic exploration. *Plant Physiol.* 176: 208-218.
- [15] Barnett JR. 2006. Cell-cell communication in wood. W: Baluška F, Volkmann P, Barlow PW, (red.) *Cell-cell channels*. New York: Landes Bioscience and Springer Science+Business Media, 135-147.
- [16] Kendrov GB. 2012. Functioning wood. *Wulfenia* 19: 57-95.
- [17] Spicer R. 2014. Symplasmic networks in secondary vascular tissues: parenchyma distribution and activity supporting long-distance transport. *J. Exp. Bot.* 65: 1829-1848.
- [18] Chaffey N, Barlow P. 2001. The cytoskeleton facilitates a three-dimensional symplasmic continuum in the long-lived ray and axial parenchyma cells of angiosperm trees. *Planta* 213: 811-823.
- [19] Czaninski Y. 1977. Vessel-associated cells. *IAWA Bulletin* 3: 51-55.
- [20] Morris H, Plavcová L, Gorai M, Klepsch MM, Kotowska M, Schenk HJ, Jansen S. 2018. Vessel-associated cells in angiosperm xylem: highly specialized living cells at the symplast-apoplast boundary. *Am. J. Bot.* 105: 1-10.
- [21] van Bel AJE, van der Schoot C. 1988. Primary function of the protective layer in contact cells: buffer against oscillations in hydrostatic pressure in the vessels? *IAWA Bulletin* 9: 285-288.
- [22] Raven JA. 2003. Long-distance transport in non-vascular plants. *Plant Cell Environ.* 26: 73-85.
- [23] Glime JM. 2007. *Bryophyte ecology*. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists.
- [24] Ligrone R, Duckett JG, Renzaglia KS. 2000. Conducting tissues and phyletic relationship of bryophytes. *Philos. T. Roy. Soc. B* 355: 795-813.
- [25] Hébant C. 1977. The conducting tissues of bryophytes. Vaduz: J. Cramer Verlag.
- [26] Finocchio AF. 1967. Pitting of cells in moss gametophores. *B. Torrey Bot. Club* 94: 18-20.
- [27] Brümelis G, Brown DH. 1997. Movement of metals to new growing tissue in the moss *Hylocomium splendens* (Hedw.) BSG. *Ann. Bot.* 79: 679-686.
- [28] Ligrone R, Duckett JG. 1994. Cytoplasmic polarity and endoplasmic microtubules associated with the nucleus and organelles are ubiquitous features of food-conducting cells in bryoid mosses (Bryophyta). *New Phytol.* 127: 601-614.
- [29] Oparka KJ. 1991. Uptake and compartmentation of fluorescent probes by plant cells. *J. Exp. Bot* 42: 565-579.
- [30] Roberts AG, Santa Cruz S, Roberts IM, Prior DAM, Turgeon R, Oparka KJ. 1997. Phloem unloading in sink leaves of *Nicotiana benthamiana*: comparison of a fluorescent solute with a fluorescent virus. *Plant Cell* 9: 1381-1396.
- [31] Pfautsch S, Renard J, Tjoelker MG, Salih A. 2015. Phloem as capacitor: radial transfer of water into xylem of tree stems occurs via symplastic transport in ray parenchyma. *Plant Physiol.* 167: 963-971.
- [32] Rigal A, Doyle SM, Robert S. 2015. Live cell imaging of FM4-64, a tool for tracing the endocytic pathways in Arabidopsis root cells. *Methods Mol. Biol.* 1242:93-103.
- [33] Oparka K, Boevink P. 2005. Techniques for imaging intercellular transport. In: Oparka KJ [red.] *Plasmodesmata*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, pp. 241-262.
- [34] Bandmann V, Homann U. 2012. Clathrin-independent endocytosis contributes to uptake of glucose into BY-2 protoplasts. *Plant J.* 70: 578-584.

- [35] Šamajová O, Takáč T, von Wangenheim D, Stelzer E, Šamaj J. 2012. Update on methods and techniques to study endocytosis in plants. In: Šamaj J [red], *Endocytosis in plants*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 1-36.
- [36] Li R, Liu P, Wan Y, Chen T, Wang Q, Mettbaach U, Baluška F, Šamaj J, Fang X, Lucas WJ, Lin J. 2012. A membrane microdomain-associated protein, Arabidopsis Flot1, is involved in a clathrin-independent endocytic pathway and is required for seedling development. *Plant Cell* 24: 2105–2122.
- [37] Nicolas WJ, Grison MS, Trépout S, Gaston A, Fouché M, Cordelières FP, Oparka K, Tilsner J, Brocard L, Bayer EM. 2017. Architecture and permeability of post-cytokinesis plasmodesmata lacking cytoplasmic sleeves. *Nature Plants* 3, 17082.
- [38] Rinne P.L.H., Kaikuranta P.M., van der Schoot C. (2001) The shoot apical meristem restores its symplasmic organization during chilling-induced release from dormancy. *Plant J.* 26, 249–264.
- [39] Rigal A, Ma Q, Robert S. 2014. Unraveling plant hormone signaling through the use of small molecules. *Front. Plant Sci.* 5: 373.
- [40] Chen X, Irani NG, Friml J. 2011. Clathrin-mediated endocytosis: the gateway into plant cells. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14: 674–682.
- [41] Ross H.B. 1990. On the use of mosses *Hylocomium splendens* and *Pleurozium schreberi* for estimating atmospheric trace metal deposition. *Water Air Soil Pollut.* 50: 63-76.
- [42] Reimann C, Niskavaara H, Kashulina G, Filzmoser P, Boyd R, Volden T, Tomilina O, Bogatyrev I. 2001. Critical remarks on the use of terrestrial moss (*Hylocomium splendens* and *Pleurozium schreberi*) for monitoring of airborne pollution. *Environ Pollut.* 113: 41-57.
- [43] DeLuca T.H., Zackrisson O., Nilsson M-C., Sellstedt A. 2002. Quantifying nitrogen-fixation in feather moss carpets of boreal forests. *Nature* 419: 917-920.
- [44] Gałuszka A. 2007. Distribution patterns of PAHs and trace elements in mosses *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. from different forest communities: A case study, south-central Poland. *Chemosphere* 67: 1415-1422.
- [45] Olmstead E, Aherne J. 2019. Are tissue concentrations of *Hylocomium splendens* a good predictor of nitrogen deposition? *Atmos. Pollut. Res* 10: 80-87.
- [46] Chen J.G. (2001) Dual auxin signaling pathways control cell elongation and division. *J. Plant Growth Regul.* 20, 255–264.
- [47] Friml J. (2003) Auxin transport – shaping the plant. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 7–12.
- [48] Berleth T. 2001. Top-down and inside-out. Directionality of signaling in vascular and embryo development. *J. Plant Growth Regul.* 20, 14–21.
- [49] Möller B, Weijers D. 2009. Auxin control of embryo patterning. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 1(5):a001545.
- [50] Reinhardt D., Mandel T., Kuhlemeier C. (2000) Auxin regulates the initiation and radial position of plant lateral organs. *Plant Cell.* 12, 507–518.
- [51] Bohn-Courseau I. 2010. Auxin: A major regulator of organogenesis. *C. R. Biol.* 333: 290-296.
- [52] Sieburth L.E. 1999. Auxin is required for leaf vein pattern in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 121: 1179–1190.
- [53] Mattsson J., Ckurshumova W., Berleth T. 2003. Auxin signaling in *Arabidopsis* leaf vascular development. *Plant Physiol.* 131, 1327–1339.
- [54] Rashotte A.M., DeLong A., Muday G.K. 2001. Genetic and chemical reductions in protein phosphatase activity alter auxin transport, gravity response, and lateral root growth. *Plant Cell* 13, 1683-1697.
- [55] Han X, Hyun T-K, Zhang M, Kumar R, Koh E, Kang B-H, Lucas WJ, Kim J-Y. 2014. Auxin-callose-mediated plasmodesmal gating is essential for tropic auxin gradient formation and signaling. developmental cell. *Dev. Cell* 28: 132-146.
- [56] Zajaczkowski S, Wodzicki TW. 1978 . Auxin and plant morphogenesis: A model of regulation. *Acta Soc. Bot. Pol.* 47 : 233 – 243.
- [57] Hejnowicz Z. 1964. Orientation of the partition in pseudotransverse division in cambia of some conifers. *Can. J. Bot.* 42: 1685 – 1691 .
- [58] Hejnowicz Z, Romberger JA. 1973 . Migrating cambial domains and the origin of wavy grain in xylem of broadleaved trees. *Am. J. Bot.* 60 : 209 – 222.

- [59]** Gibala M., Kicia M., Sakamoto W., Gola, E.M., Kubrakiewicz J., Smakowska E., Janska H. 2009. The lack of mitochondrial AtFtsH4 protease alters *Arabidopsis* leaf morphology at the late stage of rosette development under short-day photoperiod. *Plant J.* 59: 685–699
- [60]** Kicia, M., Gola, E. M. & Janska, H. 2010. Mitochondrial protease AtFtsH4 protects ageing *Arabidopsis* rosettes against oxidative damage under short-day photoperiod. *Plant Signal. Behav.* 5(2), 126–128.
- [61]** Kumar R, Mishra RK, Mishra V, Qidwai A, Pandey A, Shukla SK, Pandey M, Pathak A, Dikshit A. 2016. Detoxification and tolerance of heavy metals in plants. [W] Parvaiz Ahmad (red), *Plant Metal Interaction*. Elsevier, 335-359.

Katarzyno Sokolowska