
1. Imię i nazwisko: Alicja Banasiak

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

- a) 2001 - Doktor Nauk Biologicznych w zakresie biologii. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Anatomiczne uwarunkowania osiowej homodromii i antydromii w pędach roślin szpilkowych” praca wykonana pod kierunkiem Prof. dr hab. Beaty Zagórskiej-Marek, w Zakładzie Botaniki Ogólnej (obecnie Zakład Biologii Rozwoju Roślin), Wydział Nauk Przyrodniczych (obecnie Wydział Nauk Biologicznych) Uniwersytetu Wrocławskiego
- b) 1993 - Magister Edukacji w zakresie biologii nauczycielskiej, Instytut Botaniki, Wydział Nauk Przyrodniczych (obecnie Wydział Nauk Biologicznych) Uniwersytetu Wrocławskiego.
-

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

- Od 2002 do chwili obecnej – adiunkt w Zakładzie Biologii Rozwoju Roślin, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Wrocławski
 - 05/2006 – 11/2006; staż podoktorski, Department of Forest Genetics and Plant Physiology, Umea Plant Science Center (UPSC), Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), Umea, Szwecja
 - 1993 – 2002 – asystent Zakładzie Botaniki Ogólnej (obecnie Zakład Biologii Rozwoju Roślin), Instytut Botaniki (obecnie Instytut Biologii Rozwoju Roślin), Uniwersytet Wrocławski
 - 1991 – 1993 – pracownik techniczny w Zakładzie Botaniki Ogólnej (obecnie Zakład Biologii Rozwoju Roślin), Instytut Botaniki, Uniwersytet Wrocławski
-

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

a) *tytuł osiągnięcia naukowego*

Rola auksyn w regulacji procesów rozwojowych w pędach *Arabidopsis*

b) *Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego*

(IF zgodny z rokiem opublikowania, punkty MNiSW według listy z dn. 26 stycznia 2017r;

* odnosi się do autora korespondencyjnego, ¹ odnosi się do wspólnego pierwszego autorstwa w pracy)

P1. Banasiak. Putative dual pathway of auxin transport in organogenesis of *Arabidopsis*. *Planta* (2011) 233: 49-61. [IF 3.23; MNiSW 40]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji, zdobyciu finansowania, zaplanowaniu i wykonaniu eksperymentów, interpretacji wyników i przygotowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy wynosi 100%.

P2. Banasiak A.*, Biedroń M., Dołzbłasz A., Berezowski MA. Ontogenetic changes in auxin biosynthesis and distribution determine the organogenic activity of the shoot apical meristem in *pin1* mutants. *International Journal of Molecular Sciences* (2019), 20, 180; doi:10.3390/ijms20010180 [IF 3.687; MNiSW 30]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji, zdobyciu finansowania i zaplanowaniu wszystkich eksperymentów. Ponadto przeprowadziłam analizy budowy anatomicznej pędów, struktury trójwymiarowej systemu przewodzącego i ekspresji YUC1::GUS i YUC4::4. Brałam również udział w eksperymentach z immunolokalizacją auksyny i ekspresją reportera odpowiedzi auksynowej DR5rev::GFP, a także interpretowałam wszystkie uzyskane wyniki. Byłam odpowiedzialna za przygotowanie manuskryptu; jestem autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 60%.

P3. Dolzbłasz A.^{1*}, Banasiak A.¹, Vereecke D.* Neovascularization during leafy gall formation on *Arabidopsis thaliana* upon *Rhodococcus fascians* infection. *Planta* (2018), 247(1): 215-228 [IF 3.249; MNiSW 40]

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeprowadzeniu analiz zmian w budowie anatomicznej pędów kwiatostanowych *Arabidopsis thaliana*, indukowanych infekcją *Rhodococcus fascians* i opracowaniu modelu waskularyzacji gąla liściowego. Ponadto wspólnie z dr Alicją Dołzbłasz opracowałyśmy system zmian w odpowiedzi auksynowej w procesie tworzenia „leafy gall”. Uczestniczyłam również w pisaniu manuskryptu i byłam odpowiedzialna za przygotowanie figur. Jestem jednym z dwóch pierwszych autorów tej pracy. Mój udział procentowy szacuję na 45%.*

P4. Biedroń M., Banasiak A.*. Auxin-mediated regulation of vascular patterning in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Cell Reports* (2018) 37: 1215–1229. [IF 2.989; MNiSW 35]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji, współdziałałam w pisaniu i redagowaniu wszystkich rozdziałów, napisaniu rozdziału podsumowującego i opracowaniu sekwencji zdarzeń podczas waskularyzacji liścia. Mój udział procentowy szacuję na 50%.

P5. Sokołowska K., Kizińska J, Szewczuk Z, Banasiak A.*. Auxin conjugated to fluorescent dyes – a tool for the analysis of auxin transport pathways. *Plant Biology* (2014) 16 (5), 866-877. [IF 2.633; MNiSW 35]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji, zdobyciu finansowania, zaplanowaniu eksperymentów i przeprowadzeniu większości analiz dotyczących aktywności biologicznej koniugatów. Ponadto wspólnie z dr Katarzyną Sokołowską i Joanną Kizińską realizowałam część projektu dotyczącą analizy dystrybucji egzogenne aplikowanych

koniugatów w tkankach roślinnych. Pełniłam też główną rolę w przygotowaniu manuskryptu; jestem autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 40%.

Sumaryczny Impact Factor według listy Journal Citation Raport (JCR) dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wynosi: **15,788**

Sumaryczna liczba punktów według MNiSW dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wynosi: **180**

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

Wstęp

Rozwojowi roślin towarzyszy szereg złożonych procesów, zachodzących zarówno na poziomie komórkowym jak i ponad-komórkowym takich jak . podziały, wzrost elongacyjny, specyfikacja typów komórkowych i ich różnicowanie, a także organogeneza czy formowanie przestrzennych wzorów rozmieszczenia organów i tkanek. Realizowany program rozwojowy może ulegać także dodatkowym modyfikacjom pod wpływem zmieniających się warunków środowiskowych, a także stresu biotycznego i abiotycznego [3,34]. Te wszystkie procesy wymagają ściśle kontrolowanej regulacji i koordynacji na poziomie całego organizmu.

Podstawową cząsteczką sygnalizacyjną integrującą cały organizm roślinny i będącą pierwotnym czynnikiem odpowiedzialnym za niemal wszystkie aspekty związane z rozwojem roślin jest auksyna [39]. Jej dystrybucja, zróżnicowana komórkowo i tkankowo, a także złożony system oddziaływań na poziomie transkrypcyjnym i nietranskrypcyjnym, powodują zróżnicowaną odpowiedź komórek, tkanek i całego organizmu [17]. Jednak mechanizmy jej działania w poszczególnych procesach rozwojowych nie zostały dotąd dokładnie wyjaśnione.

Rozwój rośliny jest związany z potencjalnie nieograniczoną, postembrionalną organogenezą i różnicowaniem pasm waskularnych, które łączą inicjowane organy z waskulaturą pędu, zapewniając im zaopatrzenie w wodę i związki odżywcze, ale także - ze względu na udział w transporcie cząsteczek sygnalizacyjnych - ich komunikację z innymi rejonami rośliny [18]. Dla prawidłowego funkcjonowania roślin ważne jest więc zachowanie ciągłości i integralności systemu przewodzącego, a także wzajemne przestrzenne dopasowanie jego struktury i wzoru rozmieszczenia organów. Znaczenie tego ścisłego dopasowania organ-waskulatura jest również widoczne podczas nietypowej organogenezy indukowanej infekcją organizmami patogennymi, w wyniku której wytwarzane są tumorowe narośla, konkurujące z normalnymi organami o wodę i związki odżywcze. Skuteczność infekcji jest warunkowana uruchomieniem mechanizmów, które umożliwią wytworzenie nowych pasm waskularnych i połączenie tkanek tumorowych z waskulaturą rośliny [37]. Zarówno w trakcie normalnego rozwoju jak i podczas powstawania narośli wzajemne dopasowanie lokalizacji organów i systemu przewodzącego wymaga mechanizmu ponad-komórkowej regulacji tego procesu. Mechanizm ten, jako kluczowy dla rozwoju roślin, jest od lat przedmiotem wielu badań, jednak nadal pozostaje nie do końca zrozumiały [5,8,15,32].

Tematyka moich badań koncentruje się na procesach morfogenetycznych, które towarzyszą rozwojowi pędu rośliny modelowej *Arabidopsis thaliana*. Rozwój pędu jest warunkowany aktywnością głównie dwóch podstawowych merystemów i obecnych w nich komórek macierzystych (z ang. *stem cells*): merystemu wierzchołkowego pędu (z ang. *shoot apical meristem*, SAM), który jest odpowiedzialny za powstawanie nowych organów oraz prokambium umożliwiającego rozwój ciągłych pasm przewodzących zaopatrujących te organy

i merystem. Początek obu procesów, organogenezy i waskularyzacji, ma miejsce w strefie peryferycznej (organogenicznej) merystemu wierzchołkowego pędu i w obu procesach kluczową rolę odgrywa auksyna oraz jej polarny transport (z ang. *polar auxin transport*, PAT) zależny od obecności transporterów błonowych z rodziny PIN-FORMED (PIN) [21,28], których polarna lokalizacja nadaje kierunek transportowi auksyny [38]. U *Arabidopsis*, występuje osiem białek z rodziny PIN, ale PAT uczestniczący w indukcji organogenezy i waskularyzacji pędu w SAM, jest regulowany specyficznie przez białka PIN1 [14,15].

Według modelu opartego na PAT, wyjaśniającego mechanizm regulacji organogenezy i różnicowania pasm waskularnych, auksyna syntetyzowana w rozwijających się liściach jest transportowana powierzchniowo (w epidermie i warstwie L1 merystemu), z udziałem białek PIN1, akropetalnie do strefy peryferycznej SAM. Tam w wyniku zmian polaryzacji tych białek tworzą się maksima jej koncentracji, indukujące organogenezę, według określonego wzoru przestrzennego - filotaksji. W rozwijającym się zawiązku auksyna jest transportowana powierzchniowo do części szczytowej, gdzie przechodzi do warstw wewnętrznych, a następnie sphywa bazypetalnie, również z udziałem białek PIN1, w kierunku najbliższych zróżnicowanych pasm tkanki przewodzącej wyznaczając miejsce formowania nowego pasma [16,28]. Powstające pasma łączą się ze sobą w pędzie tworząc regularny wzór przestrzenny, zgodny z rozmieszczeniem organów na powierzchni pędu. Ten model zakłada, że PAT z udziałem białek PIN1 w warstwie L1 jest odpowiedzialny za proces inicjacji organów, ale także przestrzenny wzór ich rozmieszczenia i lokalizację pasm waskularnych. Jednak sam model auksynowej regulacji za pośrednictwem PAT i białek PIN1 nie wyjaśnia wszystkich aspektów tych procesów [8]. Przypuszcza się, że ważnymi dodatkowymi elementami tej regulacji mogą być także: lokalna biosynteza auksyny w merystemie [9], sygnalizacja cytokininowa [7], a także sygnały pochodzące z tkanek wewnętrznych [15]. Jednak rola tych czynników nie została dotąd ustalona. Jedną z przyczyn trudności w badaniach nad rolą auksyn w różnych procesach jest niewątpliwie brak skutecznych metod bezpośredniej lokalizacji auksyny i jej transportu w tkankach roślinnych. Opracowanie takich narzędzi jest obecnie również jednym z ważnych kierunków badań nad auksynową regulacją procesów rozwojowych [24].

Cel badań

Celem prowadzonych przeze mnie badań, stanowiących prezentowane osiągnięcie habilitacyjne, było ustalenie roli auksyny i jej polarnego transportu w dwóch powiązanych ze sobą procesach tj. organogenezie i waskularyzacji, a także w ich koordynacji podczas normalnej i indukowanej stresem biotycznym organogenezy, w pędzie rośliny modelowej *Arabidopsis thaliana*. W swoich badaniach podjęłam również próbę opracowania i ulepszenia metod badawczych, które pozwoliłyby na bezpośrednią wizualizację auksyny, a tym samym poznanie jej rzeczywistej tkankowej dystrybucji, sposobów transportu i mechanizmów działania, podczas różnych procesów rozwojowych u roślin.

Osiągnięcie naukowe:

P1. Banasiak. Putative dual pathway of auxin transport in organogenesis of *Arabidopsis*. *Planta* (2011) 233: 49-61.

Moje zainteresowanie regulacją organogenezy i waskularyzacji, a także powstawaniem regularnych wzorów przestrzennych, pojawiło się już podczas studiów, kiedy rozpoczęłam pracę w zespole Pani Profesor dr hab. Beaty Zagórskiej-Marek, w Zakładzie Biologii Rozwoju Roślin (dawniej – Zakład Morfologii Roślin). Pod wpływem interesujących dyskusji z Panią Profesor rozpoczęłam pod Jej kierunkiem badania nad tymi procesami u roślin szpilkowych, które kontynuowałam aż do zakończenia studiów doktoranckich. Ich wyniki, dotyczące możliwej roli systemu waskularnego w determinacji miejsca inicjacji organów na merystemie wierzchołkowym pędu (SAM), stały się dla mnie inspiracją do dalszych, pogłębionych studiów nad procesem organogenezy i waskularyzacji, ale już u rośliny modelowej *Arabidopsis thaliana*. Prowadzone przeze mnie badania początkowo były finansowane z grantu wewnętrznego Uniwersytetu Wrocławskiego. Natomiast w latach 2009-2012 uzyskałam grant badawczy finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego i kierowałam projektem pt. „Alternatywny szlak akropetalnego transportu auksyn i jego znaczenie dla organogenezy podczas rozwoju pędu *Arabidopsis thaliana*”. Efektem realizacji tego projektu są dwie prace wchodzące w skład cyklu prezentowanego jako osiągnięcie habilitacyjne [P1 i P5].

Pierwsza z tych prac [P1] dotyczy problemu indukcji organogenezy i różnicowania waskularnego w pędach mutantu *pin1*. Zgodnie z modelem auksynowej regulacji [16,28] oba te procesy są zależne od auksyny płynącej na zasadzie PAT z udziałem białek PIN1, w związku z tym mutacja w genie kodującym te białka, powinna zahamować te procesy. Tymczasem organogeneza jest zablokowana tylko na wczesnych etapach rozwoju pędu kwiatostanowego, w późniejszych etapach pojawiają się na nim sporadycznie organy boczne, natomiast w fazie wegetatywnej SAM jest aktywny organogenicznie, tworząc liście, które rozwijają się w dojrzałe struktury. Mutacja w genie *PIN1* nie blokuje również różnicowania waskularnego [20]. To sugeruje obecność jeszcze innego źródła sygnału morfogenetycznego, który w sposób niezależny od PAT i białek PIN1 indukuje rozwój liści i różnicowanie tkanek przewodzących. W oparciu o moje wcześniejsze wyniki, uzyskane z analiz roślin szpilkowych postawiłam więc hipotezę, że dodatkowym źródłem sygnału dla obu procesów są zróżnicowane pasma systemu przewodzącego. W celu weryfikacji tej hipotezy przeprowadziłam badania rozwojowo-anatomiczne połączone z pomiarami odległości pomiędzy najmłodszymi zróżnicowanymi elementami protoksylemu a strefą organogeniczną SAM u roślin z uszkodzonym PAT (mutanta *pin1* i roślin typu dzikiego (WT) traktowanych inhibitorem PAT – NPA), a także roślin WT jako kontroli, zarówno w wegetatywnej jak i generatywnej fazie rozwoju. Ważnym osiągnięciem tej części pracy było stwierdzenie opóźnienia różnicowania elementów protoksylemu podczas rozwoju pędu kwiatostanowego u roślin z uszkodzonym PAT i wykazanie ścisłej zależności pomiędzy ich lokalizacją a aktywnością organogeniczną SAM. Organy mogły być inicjowane mimo uszkodzenia PAT, ale tylko wtedy, gdy zróżnicowany protoksylem był obecny w pobliżu miejsca inicjacji. Te wyniki wskazały na system przewodzący, jako możliwą ścieżkę akropetalnego transportu sygnału morfogenetycznego, który jest odpowiedzialny za indukcję organogenezy u roślin z uszkodzonym PAT. Ważnym osiągnięciem tej pracy było również wykazanie, że brak zahamowania organogenezy u tych roślin w fazie wegetatywnej jest wynikiem silnego skrócenia międzywęzli w rozecie liściowej, które sprawia, że mimo opóźnienia różnicowania tkanek waskularnych elementy protoksylemu są zawsze w wystarczającej odległości od strefy organogenicznej, żeby dyfundujący z nich sygnał mógł indukować powstawanie liści. Pokazały to eksperymenty z wydłużaniem międzywęzli w rozecie liściowej, poprzez stosowanie giberelin, z jednoczesnym wykorzystaniem linii transgenicznej z genem reporterowym GUS pod promotorem genu *LEAFY* (*LFY*), którego ekspresja jest związana specyficznie z

merystemem generatywnym. U roślin z uszkodzonym PAT, wydłużenie międzywęźli pomiędzy liśćmi spowodowało opóźnienie różnicowania ksylemu i jego odsunięcie od strefy organogenicznej SAM, a w konsekwencji zahamowanie organogenezy już w wegetatywnej fazie rozwoju. Uzyskane wyniki pokazują, że u roślin z uszkodzonym PAT, opóźnienie różnicowania ksylemu powoduje zahamowanie organogenezy niezależnie od fazy rozwoju, co dowodzi znaczenia zróżnicowanych pasm waskularnych, jako potencjalnego źródła sygnału dla tego procesu. Ponadto efekty morfogenetyczne indukowane sygnałem pochodzącym z systemu przewodzącego są podobne do tych indukowanych auksyną transportowaną na zasadzie PAT, wskazując, że w obu wypadkach może nim być auksyna. W związku z tym zaproponowałam hipotezę podwójnej drogi transportu auksyny do SAM, indukującej organogenezę. Zgodnie z nią, auksyna jest transportowana do merystemu akropetalnie zarówno powierzchniowo z udziałem białek PIN1 jak i wewnątrz w zróżnicowanych pasmach tkanki przewodzącej. Tylko wtedy, gdy obie ścieżki jej transportu zostaną uszkodzone dochodzi do całkowitego zahamowania organogenezy.

P2. Banasiak A.*, Biedroń M., Dołzbłasz A., Berezowski MA. Ontogenetic changes in auxin biosynthesis and distribution determine the organogenic activity of the shoot apical meristem in *pin1* mutants. *International Journal of Molecular Sciences* (2019); 20, 180;

Auksyna transportowana na zasadzie PAT z udziałem białek PIN1 indukuje organogenezę ale również jest odpowiedzialna za różnicowanie waskularne [13,21,28]. Jednak uszkodzenie PAT nie tylko nie blokuje żadnego z tych procesów, ale jak się okazało podczas moich badań prowadzonych z udziałem magistranta Mateusza Berezowskiego, powoduje stopniowe ich nasilanie, w późniejszych etapach rozwoju pędu kwiatostanowego. To wskazuje na alternatywne źródło auksyny dla tych procesów i jej akumulację podczas ontogenezy. Głównym celem dalszych badań było więc sprawdzenie czy u mutantu *pin1* podobnie jak u WT organogeneza i waskularyzacja są ze sobą powiązane i czy są rzeczywiście regulowane wysokim poziomem auksyny, a jeśli tak, to jakie są jej możliwe źródła, mechanizmy transportu i sposoby działania, gdy PAT z udziałem białek PIN1 jest niefunkcyjny. Badania te były prowadzone jako część większego, kierowanego obecnie przeze mnie projektu pt. „Sygnalizacja auksynowa i funkcja genów *AtHB8* i *MP/ARF5* w tworzeniu połączeń waskularnych podczas organogenezy u *Arabidopsis thaliana*”, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (NCN), w ramach programu OPUS. Ich efektem jest jedna z prac wchodzących w skład mojego osiągnięcia habilitacyjnego [P2]. W badaniach uczestniczyła również doktorantka – mgr Magdalena Biedroń i dr Alicja Dołzbłasz z Zakładu Biologii Rozwoju Roślin, która jest biologiem molekularnym i była odpowiedzialna za genetyczną część projektu.

Aby odpowiedzieć na postawione wyżej pytania przeprowadzono szereg eksperymentów, wykorzystując w nich linie transgeniczne z genami reporterowymi, uzyskane przez nas krzyżówki tych linii z mutantem *pin1*, metodę trójwymiarowej rekonstrukcji układu pasm ksylemowych w mikroskopie konfokalnym, a także analizy anatomiczne, analizy poziomu transkryptów metodą qRT-PCR i dopracowany przez nas protokół metody immunolokalizacji auksyn.

Jednym z głównych osiągnięć tej pracy było pokazanie, po raz pierwszy w sposób bezpośredni, lokalizacji auksyny w merystemie u roślin WT i mutantu *pin1*. Uzyskane wyniki dowiodły, że jest ona zawsze obecna w merystemie, niezależnie od tego czy PAT z udziałem

białek PIN1 jest funkcjonalny, a więc nie jest on jej jedynym źródłem dla merystemu. Ponadto auksyna jest obecna w merystemie nawet wtedy, gdy nie wykrywamy ekspresji reportera odpowiedzi auksynowej *pDR5rev::GFP* stosowanego jako wyznacznik jej wysokiego, komórkowego stężenia. U mutantu *pin1* lokalizacja auksyny w obrębie SAM różni się jednak od tej u roślin WT, a dodatkowo ulega zmianom podczas ontogenezy, wykazując trzy różne wzory. W młodych, pozbawionych organów pędach kwiatostanowych auksyna jest obecna tylko w wewnętrznych warstwach merystemu, w starszych pędach ze sporadyczną organogenezą pojawia się również w warstwie L1 strefy organogenicznej, natomiast w najstarszych pędach z intensywną organogenezą jest obecna w warstwie L1 całego merystemu. Badania te pozwoliły udowodnić, że proces organogenezy jest bezpośrednio związany z obecnością auksyny w warstwie L1 strefy organogenicznej i co najważniejsze, jej lokalizacja w tym rejonie nie jest zależna wyłącznie od PAT.

Kolejnym ważnym osiągnięciem tej pracy było wykazanie, że auksyna obecna w warstwie L1 merystemu u mutantu *pin1* może pochodzić z dwóch źródeł, aktywowanych kolejno podczas ontogenezy. Jednym z nich jest biosynteza auksyn. Analizy ekspresji genów *YUC1*, *YUC4* i *TAA1*, związanych z podstawową ścieżką biosyntezy auksyn u *Arabidopsis* zależną od tryptofanu [25,41] udowodniły, że auksyna jest syntetyzowana w merystemie i może uczestniczyć w procesie organogenezy, ale tylko w późniejszych etapach ontogenezy pędu kwiatostanowego, związanych z intensywną produkcją organów. Natomiast źródłem auksyny dla sporadycznej organogenezy, we wcześniejszych etapach rozwoju, są pasma waskularne.

Przeprowadzone badania pokazały, że u mutantu *pin1*, auksyna zawsze jest obecna w rozwijających się pasmach tkanki przewodzącej i połączonych z nimi wewnętrznych warstwach merystemu, nawet wtedy, gdy w merystemie nie ma aktywnych genów biosyntezy auksyny co wskazuje, że pasma te są miejscem transportu auksyny z rozety liściowej, gdzie jest syntetyzowana, do merystemu. Niezróznicowane pasma prokambialne transportują auksynę najprawdopodobniej w symplacie do warstw wewnętrznych merystemu, ale obecność auksyny tylko w tych rejonach nie jest wystarczająca do indukcji organogenezy. Pojawienie się auksyny w warstwie L1 i indukcja organogenezy korelują z pojawieniem się w pobliżu merystemu zróżnicowanych elementów ksylemu, czemu towarzyszy apoplastowy sygnał auksyny we wszystkich komórkach w tym rejonie. Na tej podstawie zaproponowałam dwa alternatywne mechanizmy, które mogłyby odpowiadać za transport auksyny z pasm waskularnych do warstwy L1 merystemu. Jednym z nich jest postulowana już wcześniej przeze mnie możliwość transportu auksyny w pasmach ksylemowych, skąd mogłaby rozprzestrzeniać się na drodze dyfuzji w apoplaście. Drugim proponowanym mechanizmem jest rozładunek auksyny z symplastu do apoplastu w rejonie różnicowania ksylemu, z udziałem transporterów auksyny innych niż PIN1.

Ważnym osiągnięciem tej pracy było również pokazanie, że u mutantu *pin1* różnicowanie waskularne może zachodzić w sposób zależny i niezależny od obecności organów na merystemie, prawdopodobnie z udziałem dwóch różnych mechanizmów. Różnicowanie niezależne od organów przebiega akropetalnie, zawsze w sposób ciągły ze zróżnicowanymi już tkankami i nie aktywuje reportera odpowiedzi auksynowej *pDR5rev::GFP*. Natomiast różnicowanie waskularne zależne od organów zawsze jest związane z powstawaniem licznych, przejściowych nieciągłości pasm waskularnych, ich dwukierunkowym różnicowaniem i silną aktywacją reportera *pDR5rev::GFP*. Ponadto udało się pokazać, że te początkowo nieciągłe pasma waskularne łączą się ze sobą i tworzą ciągły system mimo braku funkcjonalnego PAT z udziałem białek PIN1.

P3. Dolzblasz A.*, **Banasiak A.**, Vereecke D.* Neovascularization during leafy gall formation on *Arabidopsis thaliana* upon *Rhodococcus fascians* infection. *Planta* (2018), 247(1): 215-228.

Kolejnym moim osiągnięciem naukowym była charakterystyka, zależnego od sygnalizacji auksynowej, procesu neowaskularyzacji pędu i waskularyzacji gąla liściowego u *Arabidopsis thaliana* rozwijającego się w następstwie infekcji *Rhodococcus fascians*, w ramach projektu realizowanego przez dr Alicję Dołzblasz z Zakładu Biologii Rozwoju Roślin i dr Danny Vereecke, z Uniwersytetu w Gent, do którego zostałam zaproszona ze względu na moje doświadczenie w badaniach nad procesem waskularyzacji różnych struktur roślinnych i auksynową regulacją tego procesu [P3].

Rośliny oprócz normalnej aktywności organogenicznej na SAM są zdolne do wytworzenia organów nietypowych np. tumorowych, w odpowiedzi na stres biotyczny, jakim jest infekcja organizmami patogennymi. W przypadku wielu infekcji bakteryjnych dochodzi do wykształcenia struktury podobnej do kalusa nazywanej naroślą guzowatą (z ang. *crown gall*), która nie posiada organizacji tkankowej [1]. Natomiast w przypadku infekcji przez *R. fascians* powstaje tzw. narośl liściasta (z ang. *leafy gall*), składająca się ze zmienionych, ale w pełni zorganizowanych tkankowo organów [34]. W obu przypadkach powstające struktury są miejscami, które są preferencyjnie zaopatrywane w wodę i składniki odżywcze, co powoduje ich silny wzrost kosztem innych rejonów, upośledzając rozwój rośliny. Preferencyjne zaopatrzenie narośli, a tym samym skuteczna infekcja, są możliwe jedynie wtedy, gdy patogenne bakterie uruchomią mechanizm waskularyzacji *de novo*, co spowoduje wytworzenie pasm tkanki przewodzącej, które będą przejmowały wodę i związki odżywcze transportując je do struktury tumorowej [1,37]. Celem projektu było więc poznanie mechanizmów prowadzących do rozwoju narośli typu *leafy galls* i jej waskulatury zarówno na poziomie aktywacji merystemów jak i różnicowania tkanek.

W części projektu dotyczącej etapów waskularyzacji narośli po infekcji *R. fascians*, wykorzystane zostały rośliny *Arabidopsis* infekowane *R. fascians* przez dr Alicję Dołzblasz podczas jej wizyty w Ghent, dopracowaną przez nią metodą miejscowej, nieinwazyjnej inokulacji. Stosując metodę trójwymiarowej rekonstrukcji ułożenia pasm ksylemowych, a także analizy anatomiczne, wyznaczyłyśmy kolejne etapy rozwoju pasma waskularnego zaopatrującego *leafy gall*: 1) wzrost proliferacji kambium w istniejących pasmach waskularnych pod miejscem infekcji, co prowadzi do rozrostu tych pasm; 2) indukcja kambium międzywiązkowego, czego efektem jest powstanie jednego, szerokiego pasma waskularnego 3) odróżnicowanie komórek miękiszowych sąsiadujących z tym pasmem i ich przekształcanie w pasmo tkanek przewodzących; 4) wnikanie tak uformowanego pasma waskularnego do rozwijającego się tkanki tumorowej; 5) akropetalny rozwój pasma w obrębie rozwijającego się gąla liściowego. Tworzące się pasma przewodzące przez cały czas zachowują ciągłość z waskulaturą pędu rośliny gospodarza. Na podstawie tych analiz i uwzględniając kierunkowość kolejnych etapów waskularyzacji, skonstruowałam model przestrzenny struktury systemu waskularnego zaopatrującego narośl typu *leafy galls*, co było jednym z moim osiągnięć, podczas realizacji tego projektu.

Chociaż głównym hormonem związanym z infekcją *R. fascians* są cytokiny [26,34], znanym czynnikiem indukującym rozwój pasm waskularnych jest auksyna [2,33], dlatego wspólnie z dr. Alicją Dołzblasz przeprowadziłyśmy analizy zmian w odpowiedzi auksynowej podczas procesu waskularyzacji *leafy gall*, wizualizowanej z użyciem syntetycznego reportera

DR5::GUS. Wykazałyśmy, że sekwencja tych zmian jest zgodna z kolejnymi etapami rozwoju waskulatury narośli. Sygnał GUS najpierw pojawia się w wiązках przewodzących pod miejscem infekcji, później w rejonie międzywiązkowym, następnie w komórkach miękiszowych kory pierwotnej i rdzenia całego zainfekowanego sektora pędu, a po połączeniu szerokiego pasma waskularnego z rozwijającą się naroślą jest utrzymywany tylko w tym szerokim paśmie i rozwijających się tkankach waskularnych tkanek tumorowych. Pokazałyśmy również, że kierunek progresywnego rozprzestrzeniania się sygnału *DR5::GUS* w każdym kolejnym etapie waskularyzacji, jest zgodny z kierunkiem procesu różnicowania elementów przewodzących drewna. Nasze wyniki dowodzą więc, że waskularyzacja narośli typu *leafy galls* jest procesem zależnym od auksyny.

Moim ważnym osiągnięciem było również pokazanie że narośl rozwijająca się u *Arabidopsis thaliana* pod wpływem punktowej infekcji *R. fascians*, wykazuje specyficzną strategię rozwoju własnej waskulatury, dla której zaproponowałam hipotezę, nazwaną później przez dr Danny Veerecke, „*sidetracking gall hypothesis*”. Indukowany *leafy gall* rozwija się na pędzie kwiatostanowym *Arabidopsis* przez proliferację i odróżnicowanie tkanek liścia wspierającego i powstającego w jego pachwinie odgałęzienia bocznego, wykorzystując pasma waskularne łączące te struktury z systemem przewodzącym pędu (ślady liściowe i ślady gałęziowe). Z ich udziałem tworzy własny system przewodzący z silną hipertrofią waskularną. Co najważniejsze ślady liściowe i gałęziowe nie zaopatrują pędu powyżej miejsca infekcji, dlatego też zwiększenie w nich liczby tworzonych naczyń jest korzystne jedynie dla narośli umożliwiając jej preferencyjne przejmowanie wody i związków odżywczych.

P4. Biedroń M., **Banasiak A***. Auxin-mediated regulation of vascular patterning in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Cell Reports* (2018) 37: 1215–1229

Obecna wiedza na temat waskularyzacji pochodzi głównie z badań nad procesem formowania wzoru użyłkowania w liściu, który stał się strukturą modelową w tych badaniach [31,33]. Ich efektem jest identyfikacja kilku ważnych czynników, które współdziałając ze sobą powodują powstawanie ciągłego, regularnego, przestrzennego wzoru rozmieszczenia tkanek waskularnych. Wspólnie z doktorantką Magdaleną Biedroń podjęłyśmy się opracowania pracy przeglądowej, która podsumowałaby obecną wiedzę na ten temat [P4]. Z dostępnej literatury wynika, że pierwotnym czynnikiem warunkującym rozwój systemu przewodzącego jest auksyna transportowana polarnie z udziałem białek PIN1, a także jej biosynteza i indukowane auksyną geny *AtHB8* i *MP/AFB5*. Jednak mechanizm współdziałania ze sobą tych wszystkich czynników, mimo zaproponowania kilku hipotez nie został dotąd w pełni wyjaśniony. W naszej pracy przeglądowej zebraliśmy dostępną wiedzę na temat wszystkich tych czynników i na jej podstawie skonstruowałyśmy czasowo-przestrzenną mapę zmian ich ekspresji w odniesieniu do formowania prokambium – pierwszego morfologicznie odróżnialnego etapu rozwoju użyłkowania w liściu. W przypadku genów i białek z progresywnymi zmianami ekspresji zostały również uwzględnione kierunki tych zmian. Ważnym osiągnięciem tej pracy było wskazanie na rozbieżności w opisywaniu stadiów preprokambium i prokambium, wynikające ze stosowanej metody ich identyfikacji. Stwierdziłyśmy również, że wyróżnianie tylko dwóch stadiów rozwoju dla wczesnych etapów waskularyzacji jest niewystarczające aby zrozumieć złożoność tego procesu. Brak wyróżnienia stadiów pośrednich, może być powodem trudności w integracji wyników pochodzących z różnych badań i stworzenia jednego wspólnego modelu mechanizmu waskularyzacji. Ważnym osiągnięciem tej pracy było również zaproponowanie, na podstawie zebranych informacji i reinterpretacji niektórych wyników, szczegółowej

sekwencji zdarzeń, prowadzącej do powstania pojedynczego pasma naczyniowego. W pracy wskazujemy także wciąż otwarte pytania i problemy w badaniach nad naczyniową, a także dyskutujemy możliwość istnienia kilku mechanizmów regulujących rozwój systemu przewodzącego i ich możliwe współdziałanie.

P5. Sokołowska K., Kizińska J, Szewczuk Z, **Banasiak A***. Auxin conjugated to fluorescent dyes – a tool for the analysis of auxin transport pathways. *Plant Biology* (2014) 16 (5), 866-877.

Dla pełnego zrozumienia działania auksyny i jej roli różnych procesach rozwojowych i morfogenetycznych niezbędna stała się możliwość monitorowania jej lokalizacji i transportu bezpośrednio w tkankach roślinnych. Obecnie wykorzystuje się głównie metody pośredniej detekcji auksyny oparte przede wszystkim na wykrywaniu białek i procesów związanych z sygnalizacją auksynową zależną od jądrowych receptorów z rodziny TIR1/AFB1-5, a także na lokalizacji transporterów białkowych, biorących udział w transporcie auksyny i białek enzymatycznych odpowiedzialnych za jej biosyntezę. Te metody mają jednak pewne ograniczenia, które nie zawsze są możliwe do wyeliminowania nawet podczas łączenia kilku metod w jednym eksperymencie, co mogłam odczuć także w swoich badaniach. Doszłam do wniosku, że narzędziem, które pozwoliłoby na bezpośrednią wizualizację auksyny i jej transportu mógłby być koniugat auksyny ze znacznikiem fluorescencyjnym, który można byłoby podawać egzogennie do tkanek roślinnych i monitorować jego rozprzestrzenianie. Postanowiłam podjąć próbę uzyskania takiego narzędzia [P5]. Realizację tego projektu umożliwiło mi uzyskanie grantu wewnętrznego Uniwersytetu Wrocławskiego, a następnie grantu MNiSW, w którym koniugacja auksyny była jednym z zadań badawczych, większego, kierowanego przeze mnie, projektu. Do współpracy zaprosiłam dr Katarzynę Sokołowską, która ma doświadczenie w syntezie znakowanych białek i podjęła się połączenia auksyny ze związkami fluorescencyjnymi. Do uzyskania koniugatów wykorzystane zostały dwa związki fluorescencyjne, różniące się sposobem transportu w tkankach roślinnych: symplastowo transportowany FITC (fluorescein isothiocyanate) i apoplastowo transportowany RITC (rhodamine isothiocyanate). Udało się połączyć auksynę z każdym z tych fluorochromów, co potwierdziły analizy LC-MS/MS przeprowadzone na Wydziale Chemii UW, przez Profesora dr hab. Zbigniewa Szewczuka, a uzyskane związki wykazały stabilność *in vitro*. Aby jednak mogły być wykorzystywane w badaniach jako analogi wolnej auksyny musiały spełnić kilka warunków: mieć aktywność biologiczną auksyny, być transportowanymi tak jak wolna auksyna i być stabilnymi także w tkankach roślinnych.

Wprawdzie auksyna w formie koniugatu zachowała wszystkie cechy, które zgodnie z aktualnym stanem wiedzy, są uważane za najważniejsze aby wiązała się z obu znanymi typami receptorów auksyny ABP1 i TIR1/AFB1-5 [12], jednak jej rzeczywista aktywność w tej formie wymagała weryfikacji. Aby to sprawdzić przeprowadziłam trzy typy eksperymentów. W pierwszym sprawdzona została aktywność koniugatów w indukcji organogenezy na SAM u mutantu *Arabidopsis pin1*, pokazując, że oba koniugaty podobnie jak wolna auksyna indukują rozwój organów na merystemie, podczas gdy same barwniki, stosowane jako kontrola, nie wykazują aktywności biologicznej. Drugim typem eksperymentów był test na wyginanie kulek owsa, pozwalający na sprawdzenie aktywności biologicznej koniugatów w procesie wydłużania komórek, w którym koniugaty również wykazały aktywność biologiczną taką jak wolna auksyna. Ostatnim rodzajem testów aktywności biologicznej koniugatów, przeprowadzonych z udziałem mojej magistrantki Joanny Kizińskiej, były eksperymenty z

indukcją reakcji grawitropijnej w korzeniu z wykorzystaniem linii transgenicznej *Arabidopsis pDR5rev::GFP*, która pozwala na monitorowanie transkrypcyjnej odpowiedzi auksynowej na drodze zależnej od jądrowego receptora auksyny TIR1/AFB1-5. Aplikacja wolnej auksyny i koniugatu auksyny dawała ten sam efekt powodując podobne wygięcie korzenia, a także indukowała analogiczne zmiany w lokalizacji ekspresji reportera odpowiedzi auksynowej *pDR5rev::GFP*, wskazując, że koniugat nie tylko ma aktywność biologiczną auksyny, ale że jego działanie jest związane jądrowym receptorem auksyny.

Kolejnym czynnikiem, ważnym dla użyteczności fluorescencyjnych koniugatów auksyny w badaniach jest sposób ich transportu w tkankach roślinnych. Przyłączenie auksyny do cząsteczki barwnika fluorescencyjnego zwiększyło jej wielkość i mogło zmienić również sposób transportu. W związku z tym, wspólnie z dr Katarzyną Sokołowską i Joanną Kizińską przeprowadziłyśmy doświadczenia mające na celu sprawdzenie, czy uzyskane koniugaty są transportowane jak wolna auksyna. W tym celu porównaliśmy dystrybucję egzogenne podawanych koniugatów, barwników fluorescencyjnych oraz mieszanin tych barwników z wolną auksyną. Dystrybucja tkankowa była analizowana w rejonie tkanek zróżnicowanych korzenia, w merystemie korzenia głównego i w rejonie formowania korzeni bocznych. W każdym z badanych rejonów oba koniugaty auksyny miały taki sam wzór dystrybucji, niezależnie od tego, czy do koniugacji z auksyną użyty został barwnik symplastowy czy apoplastowy. Ten wzór był jednocześnie zupełnie inny niż samych barwników i ich mieszanin z auksyną. Sygnał koniugatów był generalnie znacznie słabszy niż samych barwników, ale wykazywał wzmocnienie w rejonie cylindra waskularnego, w strefie QC i komórkach inicjalnych, a także ich najbliższych pochodnych w kolumelli – rejonach uznanych, na podstawie ekspresji *DR5:GUS* i analiz lokalizacji transporterów auksyny, za miejsce akumulacji auksyny [6,30]. Same barwniki, niezależnie od tego, czy były transportowane apoplastem czy symplastem, nie były do tych rejonów transportowane. Dodatkowym mocnym dowodem wskazującym na to, że koniugaty są transportowane tak jak auksyna, była ich silna akumulacja w komórkach pericyklu, w których indukowany był rozwój zawiązków korzeni bocznych i w merystemach wierzchołkowych rozwijających się już młodych korzeni. Są to rejon z dobrze udokumentowanym tworzeniem maksimów koncentracji auksyny, które powstają dzięki jej aktywnemu transportowi z udziałem białek PIN [11,30]. Te doświadczenia pokazały, że koniugaty są transportowane w sposób podobny do auksyny i że raczej nie ulegają rozpadowi na barwnik i auksynę po podaniu do tkanek roślinnych, chociaż ograniczonej ich hydrolizy nie udało się całkowicie wykluczyć.

Główne osiągnięcia cyklu habilitacyjnego:

1. Udowodnienie udziału zróżnicowanego systemu przewodzącego w indukcji organogenezy na SAM
2. Zaproponowanie mechanizmu podwójnej ścieżki transportu auksyny do SAM i podwójnego mechanizmu auksynowej regulacji organogenezy
3. Pokazanie, że dla procesu organogenezy niezbędna jest obecność auksyny w warstwie L1 merystemu
4. Udowodnienie, że poza PAT istnieją jeszcze co najmniej dwa mechanizmy odpowiedzialne za obecność auksyny w warstwie L1 merystemu: jej biosynteza zależna od tryptofanu i jej transport z rozety liściowej
5. Opisanie dwóch różnych sposobów waskularyzacji pędu mutantu *pin1*, niezależnego i zależnego od obecności organów na merystemie. Pokazanie, że te dwa sposoby różnią się komórkową odpowiedzią na auksynę wizualizowaną z

- wykorzystaniem reportera *pDR5::GFP*, co może się wiązać z aktywacją dwóch różnych mechanizmów.
6. Skonstruowanie modelu przestrzennego dla procesu neowaskularyzacji pędu i waskularyzacji narośli typu *leafy galls* w następstwie infekcji patogenną bakterią *R. fascians*.
 7. Wykazanie, że procesy waskularyzacji indukowane infekcją *R. fascians* są zależne od auksyny
 8. Zaproponowanie hipotezy, nazwanej później „*sidetracking gall hypothesis*”, objaśniającej strategię przejmowania wody i związków odżywczych przez *leafy galls*
 9. Opracowanie na podstawie dostępnej literatury wspólnej mapy przestrzenno-czasowych zmian w lokalizacji ekspresji głównych czynników zaangażowanych w proces waskularyzacji liścia.
 10. Zaproponowanie sekwencji zdarzeń prowadzących do powstania pojedynczego pasma waskularnego podczas rozwoju użytkownika
 11. Udowodnienie, że uzyskana znakowana fluorescencyjnie auksyna ma aktywność biologiczną wolnej auksyny i jest podobnie do niej transportowana, dlatego może być stosowana w eksperymentach jako analog auksyny

Podsumowanie

Prowadzone przeze mnie badania, stanowiące osiągnięcie naukowe, koncentrowały się głównie na dwóch procesach rozwojowych regulowanych przez auksynę: organogenezie i waskularyzacji oraz na ich wzajemnych interakcjach. Uzyskane przeze mnie wyniki pozwoliły przede wszystkim wykazać, że PAT z udziałem białek PIN1, uważany za główny regulator tych wszystkich procesów, nie jest jedynym mechanizmem za nie odpowiedzialnym. Przeprowadzone eksperymenty udowodniły znaczenie systemu przewodzącego i transportowanej w nim auksyny, a także lokalnej aktywacji biosyntezy auksyn, jako kolejnych ważnych elementów tej regulacji. Otrzymane wyniki pokazały również, że auksyna jest niewątpliwie głównym czynnikiem odpowiedzialnym za powstawanie funkcjonalnego połączenia waskularnego pomiędzy rozwijającym się organem a zróżnicowanym systemem przewodzącym zarówno w typowej organogenezie jak i indukowanej stresem biotycznym. Jednak jej działanie nie jest procesem jednokierunkowym, bazypetalnym, zgodnym z kierunkiem PAT w tkankach centralnych, jak się powszechnie uważa [5,16,28,33], ale dwukierunkowym, pozwalającym na wzajemną komunikację organ-waskulatura. Ta dwukierunkowość komunikacji auksynowej może tłumaczyć problemy z wyjaśnieniem mechanizmu formowania użytkownika w liściu, poprzez zaproponowane modele, oparte wyłącznie na polarnym transporcie auksyny. Prowadzone przeze mnie badania pozwoliły także na zaproponowanie nowych narzędzi w badaniach nad auksynową regulacją procesów rozwojowych. Pierwszym takim narzędziem jest fluorescencyjny koniugat auksyny, który ma potwierdzoną aktywność biologiczną wolnej auksyny i podobny do niej sposób dystrybucji. Drugim natomiast jest dopracowana, czuła metoda immunolokalizacji auksyny z wykorzystaniem znaczników fluorescencyjnych. Obie metody są uniwersalne i mogą być stosowane w różnych układach eksperymentalnych z wykorzystaniem różnych gatunków roślin.

Plany naukowe

Obecnie jestem w trakcie realizacji projektu finansowanego przez NCN z programu OPUS, który ma na celu poznanie roli genów *AtHB8* i *MP* w regulacji procesu waskularyzacji zależnego i niezależnego od PAT, a także określenie ich wzajemnych oddziaływań w tych procesach.

Kolejny planowany projekt będzie dotyczył obiegu auksyny w roślinach, a także jej metabolizmu i jego dobowych zmian, bezpośrednio związanych z regulacją procesów rozwojowych. Projekt ten będzie wymagał współpracy ze specjalistami w dziedzinie chemii. W chwili obecnej jest na etapie wstępnych konsultacji z Panem Prof. Zbigniewem Szewczukiem, który jest specjalistą w badaniach z wykorzystaniem spektrometrii mas na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Trzeci obszar badań, który chciałabym rozwinąć połączyłby moje doświadczenie w badaniach nad auksynami z wiedzą i doświadczeniem dotyczącymi struktury i metabolizmu ściany komórkowej. Ostatnie badania pokazują, że metabolizm, a tym samym struktura ściany komórkowej ulegają modyfikacjom pod wpływem warunków stresowych i że ważną rolę w tym procesie może odgrywać sygnalizacja hormonalna. Chciałabym dokładniej zająć się tym problemem, w ramach kontynuacji mojej współpracy z Panią Prof. Ewą Mellerowicz.

d) Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych.

Dorobek naukowy

Poza głównym obszarem moich zainteresowań badawczych, dotyczących auksynowej regulacji procesów rozwojowych, którego wyniki stanowią cykl habilitacyjny, jestem również zaangażowana w projekty z dwóch innych obszarów badawczych. Pierwszy z nich, wynikający ze współpracy z Panią Prof. Beatą Zagórką-Marek, zainspirowany Jej ogromną pasją i szeroką wiedzą, dotyczy powstawania regularnych, przestrzennych wzorów, ich wzajemnych oddziaływań, uniwersalności, przyczyn zaburzeń i mechanizmów regulujących ich powstawanie. Drugi obszar jest związany ze strukturą i metabolizmem wtórnej ściany komórkowej i jest wynikiem stażu podoktorskiego, który odbyłam w UPSC w Umea w Szwecji w laboratorium Pani Prof. Ewy Mellerowicz, dzięki czemu miałam możliwość uczestniczenia w wielu ciekawych projektach badawczych. Efektem tych zainteresowań, a także współpracy zarówno z Panią Prof. Zagórką-Marek jak i Panią Prof. Ewą Mellerowicz jest mój udział w jedenastu opublikowanych artykułach naukowych, z których osiem to prace oryginalne, a trzy to artykuły przeglądowe. Wszystkie te prace są recenzowane, a dziewięć z nich zostało opublikowanych w czasopiśmie indeksowanych w Journal Citation Reports (JCR). Sumaryczny Impact Factor tych prac, zgodny z rokiem opublikowania (bez prac stanowiących osiągnięcie naukowe), wynosi 30.5, a suma punktów zgodnie z aktualnym systemem punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW; wg listy z dnia 9 grudnia 2016 r.) wynosi 315. Prace w moim dorobku, poza cyklem habilitacyjnym, dotyczą czterech aspektów: *Formowania periodycznych wzorów w rozwoju pędu, Aktywności hydrolaz glikozydowych w ścianach komórkowych, Powstawania i funkcjonowania warstwy żelatynowej włókien drewna tensyjnego, Struktury ściany komórkowej i jej modyfikacji*. Większość z tych prac jest wieloautorskich, wynikających ze współpracy wielu ośrodków badawczych.

Inne prace naukowe nie związane z cyklem habilitacyjnym

1. Zagórska-Marek B.*, **Banasiak A.** Related to phyllotaxis interlocked systems of vascular sympodia and cortical resin canals in *Abies* and *Picea* shoots. *Acta Soc Bot Pol* (2000) 69(3): 165-172 [IF 0.235; MNiSW 25]
2. **Banasiak A.S.** Polarny transport auksyny-hipotezy i odkrycia. *Postępy Biologii Komórki* (2003) 30(4): 605-618
3. **Banasiak A.S.**, Zagórska-Marek B. Signals flowing from mature tissues to shoot apical meristem affect phyllotaxis in coniferous shoot. *Acta Soc Bot Pol* (2006) 75(2): 113-121 [IF 0.148; MNiSW 25]
4. Nishikubo N., Awano T., **Banasiak A.**, Bourquin V., Ibatullin F., Funada R., Brumer H., Tenri T.T., Hayashi T., Sundberg B., Mellerowicz E. 2007. Xyloglucan endo-transglycosylase (XET) functions in gelatinous layers of tension wood fibers in poplar – a glimpse into the mechanism of the balancing act of trees. *Plant Cell Physiol* (2007) 48(6): 843-855 [IF 3.594; MNiSW 40]
5. Takahashi J., Rudsander U.J., Hedenström H., **Banasiak A.**, Harholt J., Amelot N., Immerzeel P., Rydel P., Mendo S., Ibatullin F.M., Brumer H., del Campillo E., Master E.R., Scheller H.V., Sundberg B., Teeri T.T., Mellerowicz E.J. KORRIGAN1 and its Aspen Homolog PttCel9A1 Decrease Cellulose Crystallinity in Arabidopsis Stems. *Plant Cell Physiol* (2009) 50: 1099 – 1115 [IF 3.654; MNiSW 40]
6. Ibatullin F.M.¹, **Banasiak A.**¹, Baumann M.J., Greffe L., Takahashi-Schmidt J., Mellerowicz E., Brumer H. A real-time fluorogenic assay for the visualization of glycoside hydrolase activity in planta. *Plant Physiology* (2009) 151: 1741–1750 [IF 7.054; MNiSW 45]; ¹ wspólne pierwsze autorstwo w publikacji
7. **Banasiak A.** Evolution of the cell wall components during terrestrialization. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* (2014) 83(4): 349–362 [IF 1.174; MNiSW 25].
8. **Banasiak A.**, Ibatullin F.M., Brumer H., Mellerowicz E.J. Glycoside Hydrolase Activities in Cell Walls of Sclerenchyma Cells in the Inflorescence Stems of *Arabidopsis thaliana* Visualized *in Situ*. *Plants* (2014) 3: 513-525
9. Gorshkova T.*, Mokshina N., Chernova T., Ibragimova N, Salnikov V, Mikshina P., Tryfona T., **Banasiak A.**, Immerzeel P., Dupree P., Mellerowicz E.J*. Aspen Tension Wood Fibers Contain b-(1→4)-Galactans and Acidic Arabinogalactans Retained by Cellulose Microfibrils in Gelatinous Walls. *Plant Physiology* (2015) 169: 2048–2063 [IF 6.28; MNiSW 45]
10. Gola E.M.*, **Banasiak A.** Diversity of phyllotaxis in land plants in reference to the shoot apical meristem structure. *Acta Soc Bot Pol* (2016) 85(4): 3529. [IF 0.917; MNiSW 25]
11. Pawar P.M-A., Derba-Maceluch M., Chong S-L., Leonardo D. Gómez L.D., Miedes E., **Banasiak A.**, Ratke Ch., Gaertner C., Mouille G., McQueen-Mason S.J., Molina A., Sellstedt A., Tenkanen M., Mellerowicz E.J.*. Expression of fungal acetyl xylan

esterase in *Arabidopsis thaliana* improves saccharification of stem lignocellulose. *Plant Biotechnology Journal* (2016) 14: 387–397. [IF 7.443; MNiSW 45]

Formowanie periodycznych wzorów w rozwoju pędu

Zagórska-Marek B.*, **Banasiak A.** Related to phyllotaxis interlocked systems of vascular sympodia and cortical resin canals in *Abies* and *Picea* shoots. *Acta Soc Bot Pol* (2000) 69(3): 165-172

Banasiak A.S., Zagórska-Marek B. Signals flowing from mature tissues to shoot apical meristem affect phyllotaxis in coniferous shoot. *Acta Soc Bot Pol* (2006) 75(2): 113-121

Banasiak A.S. Polarny transport auksyny-hipotezy i odkrycia. *Postępy Biologii Komórki* (2003) 30(4): 605-618

Gola E.M.*, **Banasiak A.** Diversity of phyllotaxis in land plants in reference to the shoot apical meristem structure. *Acta Soc Bot Pol* (2016) 85(4): 3529.

Od początku swojej pracy naukowej jestem związana z Zakładem Biologii Rozwoju Roślin (dawniej – Zakład Morfologii Roślin), gdzie zaczęłam pracować już na trzecim roku studiów jako asystent techniczny Pani Prof. Beaty Zagórskiej-Marek i zainspirowana Jej badaniami zainteresowałam się problemami formowania przestrzennych wzorów rozmieszczenia organów u roślin. Wkrótce potem, pod Jej kierunkiem, rozpoczęłam realizację projektu badawczego dotyczącego różnorodności wzorów filotaktycznych u roślin szpilkowych, a także ich związku ze strukturą systemu przewodzącego i układem korowych kanałów żywicznych. Efektem tego projektu była moja praca magisterska zatytułowana „Chiralność filotaksji w rozgałęziających się pędach jodły i świerka”, a następnie praca opublikowana w *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* [**Zagórska-Marek i Banasiak 2000**]. Mój udział w tej pracy polegał na przetestowaniu hipotezy Pani Prof. Zagórskiej-Marek dotyczącej wzajemnego związku liczby kanałów żywicznych i liczby sympodiów waskularnych, poprzez analizy morfologiczne i anatomiczne młodych pędów jodły i świerka. Pędy te charakteryzowały się różną średnicą anatomiczną i różnymi wzorami filotaktycznymi. Przeprowadzone analizy pozwoliły ustalić, że liczba sympodiów waskularnych i liczba kanałów żywicznych są zawsze liczbami należącymi do ciągu filotaktycznego, który opisuje wzór rozmieszczenia organów na powierzchni pędu. Ponadto liczba kanałów żywicznych jest zawsze mniejsza od liczby sympodiów o jedno miejsce w ciągu, a ich orientacja chiralna jest taka, jak parastychy odpowiadającej tej samej liczbie w danym ciągu. Oznacza to, że kanały żywiczne i sympodia waskularne są zawsze w stosunku do siebie przeciwnie nachylone. Najważniejszymi osiągnięciami tego projektu było: 1) opisanie nowego zjawiska indukcji heterogenicznej pomiędzy trzema różnymi systemami: wzorem filotaktycznym, systemem waskularnym i korowymi kanałami żywicznymi; 2) pokazanie, że stwierdzona, przeciwna orientacja chiralna sympodiów waskularnych i kanałów żywicznych może być ważnym czynnikiem biomechanicznym, wzmacniającym strukturę pędu; 3) opracowanie nowej metody szybkiego wyznaczania liczby sympodiów w pędzie.

Po ukończeniu studiów magisterskich Pan Prof. Stanisław Marek, ówczesny kierownik Zakładu Morfologii Roślin, zaproponował mi stanowisko asystenta naukowego, a następnie rozpoczęłam badania w ramach studiów doktoranckich. Pod kierunkiem Pani Prof. Zagórskiej-Marek zrealizowałam projekt pt. „*Anatomiczne uwarunkowania osiowej homodromii i*

antydromii w pędach roślin szpilkowych". Projekt ten uzyskał finansowanie Komitetu Badań Naukowych w ramach grantu promotorskiego, dzięki czemu miałam możliwość zaprezentowania wyników swoich badań, w formie ustnego wystąpienia, na corocznej konferencji Botanical Society of America „Botany 2000” w Portland OR, USA. Efektem mojej pracy doktorskiej była praca opublikowana w Acta Societatis Botanicorum Poloniae [**Banasiak i Zagórska-Marek 2006**] przedstawiająca dwie różne strategie regulacji formowania wzorów filotaktycznych i dowody na możliwy udział systemu przewodzącego w wyznaczaniu miejsca inicjacji organu na merystemie. Badania prowadziłam na czterech gatunkach roślin szpilkowych z filotaksją skrętoległą: *Taxus baccata*, *Abies concolor*, *Cephalotaxus fortunei* i *Torreya nucifera*. W przypadku wszystkich tych gatunków pojedynczy merystem wierzchołkowy pędu tworzy liście asymilacyjne w rocznych cyklach, przedzielonych etapem inicjacji liści łuskowatych, dlatego wzdłuż pojedynczego pędu występują na zmianę rejony z liśćmi asymilacyjnymi i rejony liści łuskowatych. Wykorzystując metodę identyfikacji wzoru filotaktycznego z użyciem pary parastych kontaktowych, a także metodę pomiaru kątów pomiędzy kolejno inicjowanymi liśćmi, analizowałam wzory filotaktyczne i ich konfigurację chiralną w kolejnych rejonach inicjowanych wzdłuż tego samego pędu. Ważnym osiągnięciem tej części projektu było wykazanie że badane gatunki mają różną strategię funkcjonowania merystemu w procesie organogenezy. Merystem może być całkowicie autonomiczny w tym procesie, jak to ma miejsce u *Torreya* lub podlegać wpływom tkanek zróżnicowanych, co występuje w przypadku pozostałych badanych gatunków. Głównym osiągnięciem całego projektu było pokazanie, że przyczyną autonomii merystemu *Torreya* w procesie organogenezy jest najprawdopodobniej zanik sygnału pochodzącego ze zróżnicowanego protoksylemu, ze względu na jego izolację, poprzez specyficznie zlokalizowaną płytkę kolenchymatyczną. Badania nad *Torreya* i autonomią SAM u szpilkowych stały się punktem wyjścia do moich przyszłych badań na *Arabidopsis*, których wyniki stanowią moje osiągnięcie habilitacyjne.

Natura sygnału u szpilkowych, płynącego akropetalnie, prawdopodobnie protoksylemem, nie była wówczas znana. Hipotetycznie mogła nim być auksyna transportowana do merystemu, razem ze strumieniem wody. Wskazywał na to fakt, że hormon ten jest zaangażowany w regulację aktywności organogenicznej na SAM, a jego egzogenna aplikacja na merystem indukuje organogenezę [27]. To było powodem mojego szerszego zainteresowania auksyną, czego efektem była praca przeglądowa opublikowana w Postępkach Biologii Komórki [**Banasiak 2003**]. Praca ta uwzględniała najnowszą literaturę dotyczącą różnorodności procesów z udziałem tego hormonu, mechanizmów odpowiedzialnych za jego dystrybucję, a także jego roli w procesie organogenezy na SAM. W swojej pracy opisałam między innymi znane kierunki polarnego transportu auksyny i tkanki, w których ten mechanizm został zidentyfikowany, z uwzględnieniem molekularnych komponentów tego transportu. Przedstawiłam również nowo zdefiniowany mechanizm długodystansowego transportu auksyny floemem, z udziałem transporterów importowanej do komórki auksyny z rodziny AUX1/LAX [35]. Jednym z ważniejszych osiągnięć tej pracy było zwrócenie uwagi na fakt, że dwa procesy indukowane auksyną - powstawanie zawiązków organów na SAM i zróżnicowanie tkanek naczyniowych - są ukierunkowane akropetalnie, natomiast PAT, który jest uważany za mechanizm je regulujący, przebiega w kierunku bazypetalnym. Moją główną tezę w tej pracy było wskazanie argumentów za tym, że musi istnieć jeszcze jakaś inna ścieżka transportu auksyny w pędzie, w kierunku akropetalnym, która mogłaby wyjaśnić mechanizm tych procesów. Postawiona teza, wkrótce została potwierdzona w badaniach pokazujących, że istnieje jeszcze ścieżka akropetalnego transportu auksyny w epidermie i warstwie L1 i że jest

ona odpowiedzialna za proces organogenezy na merystemie [28]. Badania te nie wyjaśniły jednak akropetalnego kierunku różnicowania waskularnego, co stało się jednym z głównych problemów badawczych w mojej dalszej pracy naukowej.

Formowanie regularnych przestrzennych wzorów podczas rozwoju roślin, a szczególnie wzorów rozmieszczenia organów na merystemie wierzchołkowym pędu, pozostaje jednym z ważnych obszarów moich zainteresowań. Z tego względu wspólnie z dr Edytą Gołą przygotowałyśmy pracę przeglądową do numeru specjalnego *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, poświęconego filotaksji [Gola i Banasiak 2016]. W pracy tej przedstawiłyśmy zróżnicowanie wzorów filotaktycznych u różnych grup roślin lądowych, w powiązaniu ze strukturą merystemów wierzchołkowych pędu, odpowiedzialnych za ich powstawanie. Pokazałyśmy, że poziom zróżnicowania wzorów filotaktycznych zależy, przynajmniej częściowo, od stopnia złożoności merystemu, w tym liczby i położenia komórek inicjalnych, a także od proporcji geometrycznych SAM. Opisałyśmy również znany model auksynowej regulacji kształtowania wzoru filotaktycznego jako samo-organizującego się procesu, prawdopodobnie wspólnego dla wszystkich roślin nasiennych, a także przedyskutowałyśmy ten mechanizm pod kątem ewolucyjnym. Przeanalizowałyśmy również możliwość udziału innych mechanizmów, niezależnych od PAT w formowaniu wzorów filotaktycznych. Jednym z ważniejszych wniosków wynikających z tej pracy jest uniwersalność głównych typów wzorów w świecie roślin, niezależnie od struktury merystemu, a także pochodzenia i typu organów.

Aktywność hydrolaz glikozydowych w ścianach komórkowych

Ibatullin F.M.¹, **Banasiak A.**¹, Baumann M.J., Greffe L., Takahashi-Schmidt J., Mellerowicz E., Brumer H. A real-time fluorogenic assay for the visualization of glycoside hydrolase activity in planta. *Plant Physiology* (2009) 151: 1741–1750. ¹ wspólne pierwsze autorstwo w publikacji

Banasiak A., Ibatullin F.M., Brumer H., Mellerowicz E.J.. Glycoside Hydrolase Activities in Cell Walls of Sclerenchyma Cells in the Inflorescence Stems of *Arabidopsis thaliana* Visualized *in Situ*. *Plants* (2014) 3: 513-525

Podczas mojej pracy naukowej odbyłam 6-miesięczny staż podoktorski w laboratorium Pani Prof. Ewy Mellerowicz w Umea Plant Science Centre, w Szwecji. Podczas tego pobytu rozwinęłam moje zainteresowania rozwojem, strukturą i modyfikacjami ściany komórkowej, zwłaszcza ściany wtórnej. Zostałam zaangażowana w wiele projektów związanych z tą tematyką, czego efektem był mój kilkukrotny późniejszy pobyt w tym ośrodku i trwała współpraca z Panią Prof. Ewą Mellerowicz. Podczas mojego pierwszego pobytu w UPSC zostałam zaangażowana w projekt, który koncentrował się na znalezieniu nowej metody wizualizacji aktywności hydrolaz glikozydowych związanych z przebudową ściany komórkowej, bezpośrednio w tkankach roślinnych, w czasie rzeczywistym. Efektem jego realizacji są dwie publikacje [Ibatullin et al. 2009, Banasiak et al. 2014] W ramach projektu zsyntetyzowanych zostało pięć związków połączonych z fluorochromem – rezorufiną, będących potencjalnymi substratami dla różnych grup hydrolaz glikozydowych. Rezorufina wykazywała świecenie dopiero po przecięciu odpowiedniego wiązania w wyniku specyficznej dla substratu aktywności enzymatycznej. Mój udział w początkowym etapie realizacji tego projektu polegał na testowaniu substratów bezpośrednio w tkankach roślinnych, przy użyciu mikroskopu konfokalnego i opracowaniu metody śledzenia aktywności enzymatycznej w czasie rzeczywistym, a także ustaleniu dla każdego z substratów optymalnych warunków

reakcji [Ibatullin et al. 2009, Banasiak et al. 2014]. Projekt ten kontynuowałam podczas moich kolejnych pobytów w laboratorium Pani Prof. Ewy Mellerowicz. Jego ważną częścią były badania aktywności białek enzymatycznych kodowanych przez geny *XTH* (*xyloglucan endo-transglycosylase/hydrolase*), w których uczestniczyłam w ramach stypendium wyjazdowego uzyskanego z programu COST-STSM-E50 „Cell wall macromolecules and reaction wood (CEMARE). Białka kodowane przez geny *XTH* mogą wykazywać dwie odmienne aktywności enzymatyczne, mogą działać jako endo-hydrolazy ksyloglukanu, albo mieć aktywność endo-transglikozylaz ksyloglukanu [29]. Aby zrozumieć działanie tych enzymów i regulację ich aktywności w tkankach roślinnych, wykorzystany został związek XXXG- β -Res, który był specyficznym substratem dla aktywności endo-hydrolaz ksyloglukanu (XEH). Udało się to potwierdzić zarówno w testach *in vitro* jak i *in vivo* co było jednym z najważniejszych osiągnięć tej pracy. Mój udział w tej pracy polegał na przeprowadzeniu testów *in vitro*, które pozwoliły zwizualizować po raz pierwszy aktywność XEH w czasie rzeczywistym zarówno w kiełkujących nasionach *Tropaeolum majus* jak i pędach kwiatostanowych *Arabidopsis*, a także ustalić lokalizację tej aktywności na poziomie tkankowym i komórkowym [Ibatullin et al. 2009]. Brałam również udział w pisaniu manuskryptu i przygotowaniu ilustracji, jestem jednym z dwóch pierwszych autorów tej pracy.

Wszystkie zsyntetyzowane substraty dla aktywności hydrolaz glikozydowych zostały wykorzystane także w innym projekcie, dotyczącym analiz aktywności *in situ* β -1,4-glukozydaz, β -1,4-glukanaz, β -1,4-galaktozydaz i ksyloglukanaz w dojrzałych pędach kwiatostanowych *Arabidopsis*. Najważniejszym osiągnięciem opublikowanej pracy [Banasiak et al. 2014] było pokazanie, że znakowane rezorufiną substraty mogą być stosowane do identyfikacji aktywności enzymatycznej poszczególnych hydrolaz glikozydowych bezpośrednio w tkankach roślinnych, w czasie rzeczywistym. Mój udział w tej pracy polegał na przeprowadzeniu analiz aktywności enzymatycznej *in situ*, które wykazały, że enzymatyczna przebudowa ściany komórkowej sklerenchymy jest ściśle związana z odkładaniem kolejnych warstw ściany, ale może zachodzić również po śmierci komórki. Ponadto moje analizy pozwoliły udowodnić, że różne aktywności enzymatyczne mają zróżnicowaną, specyficzną dla nich dystrybucję w obrębie warstw ściany komórkowej pojedynczej komórki. Uczestniczyłam także w pisaniu manuskryptu i przygotowywałam większość ilustracji do pracy, jestem w niej pierwszym autorem.

Powstawanie i funkcjonowanie warstwy żelatynowej włókien drewna tensyjnego

Nishikubo N., Awano T., **Banasiak A.**, Bourquin V., Ibatullin F., Funada R., Brumem H., Tenri T.T., Hayashi T., Sundberg B., Mellerowicz E. 2007. Xyloglucan *endo*-transglycosylase (XET) functions in gelatinous layers of tension wood fibers in poplar – a glimpse into the mechanism of the balancing act of trees. *Plant Cell Physiol* (2007) 48(6): 843-855

Gorshkova T.*, Mokshina N., Chernova T., Ibragimova N., Salnikov V., Mikshina P., Tryfona T., **Banasiak A.**, Immerzeel P., Dupree P., Mellerowicz E.J*. Aspen Tension Wood Fibers Contain b-(1 \rightarrow 4)-Galactans and Acidic Arabinogalactans Retained by Cellulose Microfibrils in Gelatinous Walls. *Plant Physiology* (2015) 169: 2048–2063

Podczas pobytu w laboratorium prof. Ewy Mellerowicz uczestniczyłam również w realizowanych przez nią dwóch projektach dotyczących formowania ściany włókien żelatynowych drewna tensyjnego u topoli i ich funkcjonowania podczas stresu mechanicznego.

W pierwszym z projektów, poprzez analizy chemiczne i enzymologiczne, zidentyfikowano fukozylowany ksyloglukan, arabinogalaktan i mannan jako składniki ścian włókien drewna tensyjnego (TW). Stwierdzono również, że głównym nie celulozowym komponentem warstwy żelatynowej jest ksyloglukan, który typowo występuje w pierwotnych ścianach komórkowych, natomiast nie występuje w ścianach wtórnych. Mój udział w tym projekcie polegał na potwierdzeniu obecności ksyloglukanu w warstwie żelatynowej poprzez dwa różne eksperymenty: immunolokalizację ksyloglukanu z wykorzystaniem monoklonalnych przeciwciał CCRC-M1, a także testy aktywności enzymatycznej endo-transglikozyłazy ksyloglukanu (XET), dla których ksyloglukan jest substratem. Te eksperymenty pozwoliły również stwierdzić, że podczas dojrzewania włókien TW dochodzi do zmiany lokalizacji aktywności enzymatycznej XET w obrębie warstwy ściany komórkowej i że ta aktywność w ścianie utrzymuje się jeszcze przez kilka lat po tym, jak zamiera protoplast.

Na podstawie tych wyników zaproponowany został mechanizm naprawiania połączeń pomiędzy warstwami ściany. Rolą warstwy żelatynowej prawdopodobnie jest rozciąganie włókien żelatynowych, w celu wygięcia pnia [4]. Jeśli podczas tego procesu mikrofibryle celulozowe przesuwają się względem siebie, może to powodować uszkodzenie słabego połączenia pomiędzy warstwą żelatynową a warstwą ściany wtórnej. To z kolei wymaga konieczności aktywacji mechanizmów ich łączenia w celu naprawy integralności ściany komórkowej. Zaproponowaliśmy, że działanie XET, aktywnych we włóknach żelatynowych, może być związane z naprawianiem tych zerwanych połączeń. Ponadto odkrycie produktu genu XTH i wykazanie aktywności XET w kilkuletnich włóknach TW wskazuje, że enzym ten może być aktywny nawet w martwych włóknach żelatynowych.

Drugi z projektów dotyczący drewna tensyjnego, był związany z mechanizmem generującym naprężenia we włóknach żelatynowych [Groshkova et al. 2015]. Na podstawie wcześniejszych badań postulowano, że powstające naprężenia mogą wynikać z uwężnienia polimerów macierzy ściany komórkowej wewnątrz mikrofibryli celulozowej [22]. W celu przetestowania tej hipotezy przeprowadzono identyfikację polimerów ściany komórkowej, które są zatrzymywane przez mikrofibryle celulozy w drewnie tensyjnym i normalnym u osiki hybrydowej (*Populus tremula x tremuloides*). Głównymi zidentyfikowanymi, dużymi polimerami macierzy zatrzymywanymi przez mikrofibryle celulozowe, które występowały specyficznie w drewnie tensyjnym były: RG-I i β -(1-4)-galaktan. Mój udział w tym projekcie polegał na przeprowadzeniu analiz aktywności β -1,4-galaktozydazy *in situ* dla drewna tensyjnego i drewna normalnego, aby sprawdzić czy mechanizm formowania drewna tensyjnego obejmuje działanie galaktozidaz. Aktywność tych enzymów wykryłam w rozwijających się ścianach komórkowych zarówno drewna tensyjnego jak i normalnego, ale w drewnie tensyjnym była znacznie silniejsza. Sygnał uwalnianej rezorufiny w drewnie tensyjnym był bardzo intensywny w warstwie żelatynowej a także zewnętrznych rejonach ściany komórkowej, prawdopodobnie blaszce środkowej. Te wyniki były podstawą do zaproponowania hipotezy, że aktywność enzymatyczna β -1,4-galaktozydazy może regulować uwężnienie galaktanu w mikrofibrylach celulozowych, a tym samym właściwości mechaniczne ścian komórkowych w drewnie tensyjnym.

Oba zrealizowane projekty dotyczące drewna tensyjnego przyczyniły się do zaproponowania nowego modelu struktury i funkcjonowania włókna żelatynowego [Groshkova et al. 2015].

Struktura ściany komórkowej i jej modyfikacje

Banasiak A. Evolution of the cell wall components during terrestrialization. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* (2014) 83(4): 349–362

Takahashi J., Rudsander U.J., Hedenström H., **Banasiak A.**, Harholt J., Amelot N., Immerzeel P., Rydel P., Mendo S., Ibatullin F.M., Brumer H., del Campillo E., Master E.R., Scheller H.V., Sundberg B., Teeri T.T., Mellerowicz E.J. KORRIGAN1 and its Aspen Homolog PttCel9A1 Decrease Cellulose Crystallinity in Arabidopsis Stems. *Plant Cell Physiol* (2009) 50: 1099 – 1115

Pawar P.M-A., Derba-Maceluch M., Chong S-L., Leonardo D. Gómez L.D., Miedes E., **Banasiak A.**, Ratke Ch., Gaertner C., Mouille G., McQueen-Mason S.J., Molina A., Sellstedt A., Tenkanen M., Mellerowicz E.J.*. Expression of fungal acetyl xylan esterase in Arabidopsis thaliana improves saccharification of stem lignocellulose. *Plant Biotechnology Journal* (2016) 14: 387–397.

Ze względu na moje doświadczenie w pracy nad strukturą i modyfikacjami ściany komórkowej, zostałam poproszona przez Panią Prof. Beatę Zagórską-Marek, która była organizatorem mini-konferencji PTBER pt. „Ewolucja komórki roślinnej”, o wygłoszenie referatu dotyczącego ewolucji ściany komórkowej. Przygotowanie wykładu zatytułowanego „Ewolucyjne zmiany w strukturze i składzie ściany komórkowej” było dla mnie motywacją do pogłębienia wiedzy w zakresie ewolucji składu, biosyntezy i metabolizmu ściany komórkowej u różnych organizmów, począwszy od bakterii aż do najbardziej zaawansowanych ewolucyjnie grup roślin lądowych. Przyczyniło się to do późniejszego opublikowania przeze mnie, również na zaproszenie Pani Prof. Beaty Zagórskiej-Marek, pracy przeglądowej w numerze specjalnym *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* [**Banasiak 2014**]. Przedstawiłam w niej aktualną wiedzę, przede wszystkim na temat polisacharydowych komponentów ścian komórkowych, zidentyfikowanych genów zaangażowanych w ich biosyntezę i niektórych aktywności metabolicznych odpowiedzialnych za ich modyfikacje. Ponadto przeanalizowałam znaczenie tych zmian w kontekście adaptacji ewolucyjnych, które przyczyniły się do sukcesu ewolucyjnego roślin i ich późniejszej dywersyfikacji.

W ramach współpracy z Panią Prof. Ewą Mellerowicz byłam również zaangażowana w projekt dotyczący roli aktywności celulaz w rozwoju wtórnej ściany komórkowej [**Takahashi et al. 2009**]. Uważa się, że mikrofibryle celulozowe obecne w ścianie mają wewnątrz strukturę krystaliczną, natomiast w ich zewnętrznych rejonach łańcuchy glukanów są mniej uporządkowane i połączone z innymi polisacharydami ściany tworząc fazę amorficzną. U roślin znane są dwie rodziny celulaz, które są zdolne do ograniczonej hydrolizy i to tylko celulozy amorficznej [23]. Większość roślinnych celulaz należy do hydrolaz glikozydowych grupy 9 (GH9) [10]. Jedną z nich jest celulaza zidentyfikowana u Arabidopsis KORRIGAN1 (KOR1), która jest enzymem związanym z błoną komórkową i wydaje się uczestniczyć nie w procesie hydrolizy, ale biosyntezy celulozy [36]. Aby lepiej zrozumieć jej funkcję molekularną, szczególnie w kontekście tworzenia ściany wtórnej i wpływu na strukturę celulozy, rozpoczęte były badania nad celulazami o podobnej funkcji występującymi u topoli hybrydowej (*Populus tremula x tremuloides*). Głównym osiągnięciem tych badań była identyfikacja PttCel9A1 jako enzymu ekwiwalentnego funkcjonalnie z KOR1. Ponadto analizy transkryptu a także przeprowadzone przeze mnie badania wzoru ekspresji na poziomie tkankowym pokazały, że aktywność obu genów *PttCel9A1* i *KOR1* silnie wzrasta w rozwijającym się drewnie, co wskazuje na ich możliwą funkcję w procesie biosyntezy ściany wtórnej.

Ważnym osiągnięciem projektu było również pokazanie, że PttCel9A1 zarówno *in vitro* jak i *in situ* mogą działać na połączone z rezorufiną β -cellobiozy, i że mają one aktywność endo-glukanaz (celulaz lub cellobiohydrolaz), a nie exo-glukanaz. Mój udział w tej części projektu polegał na przeprowadzeniu testów aktywności enzymatycznej bezpośrednio w tkankach roślinnych. Pozwoliły one pokazać, że rezorufina jest w większości uwalniana w rozwijających się wtórnych ścianach komórkowych co pośrednio wskazuje, że celulaza PttCel9A1/KOR1 jest zlokalizowana w błonie komórkowej, z domeną katalityczną od strony ściany komórkowej. Przeprowadziłam również analizy porównawcze morfologii ścian komórkowych u roślin z różnym poziomem aktywności celulaz na maceratach z drewna roślin WT, linii z nadekspresją i dwóch mutantów genu *KOR1*: *kor1-1* i *irx2*. Uzyskane wyniki pokazały, że niedobór funkcji PttCel9A1 / KOR1 wywołuje głębokie defekty w ścianach wtórnych komórek drewna, podczas gdy nadmiar ich aktywności nie powoduje widocznych zmian.

Kolejnym ważnym osiągnięciem pracy było pokazanie poprzez badania chemiczne i biochemiczne że nadekspresja *PttCel9A1* u *Araidopsis* powoduje redukcję krystaliczności celulozy, podczas gdy mutacja w genie *KOR1* - *irx2* wykazuje jej wzrost. Ten wynik jest dowodem potwierdzającym hipotezę, że aktywność PttCel9A1 w ścianie komórkowej wpływa na biosyntezę celulozy modyfikując sieć celulozową w sposób, który zwiększa ilość celulozy niekrystalicznej.

Kolejny projekt realizowany przez zespół Pani Prof. Ewy Mellerowicz, w którym uczestniczyłam, dotyczył post-syntetycznej deacetylacji ksylanu [Pawar et al. 2016]. W celu sprawdzenia, w jaki sposób zmniejszenie zakresu O-acetylacji ksylanu wpływa na chemizm ściany komórkowej, funkcjonowanie roślin i oporność lignocelulozy na sacharyfikację, w ramach projektu zostały skonstruowane i wykorzystane linie transgeniczne, w których gen *Aspergillus niger* - *AnAXE1* kodujący esterazę acetylo-ksylanową ulegał ekspresji u *Arabidopsis* pod kontrolą promotora 35S CAMV lub promotora topoli GT43B, specyficznego dla drewna. Białko AnAXE1 było kierowane do apoplastu przez jego natywny peptyd sygnałowy, co skutkowało podniesieniem aktywności esterazy acetylowej w ścianach komórkowych oraz zmniejszeniem w nich acetylacji ksylanu.

Ważnym osiągnięciem projektu było wykazanie, że post-syntetyczna deacetylacja ksylanu nie wpływa negatywnie na rozwój rośliny. To oznacza, że rośliny mogą tolerować dosyć dużą post-syntetyczną redukcję acetylacji ksylanu, która jest lepiej tolerowana niż testowana w innych badaniach [19,40] redukcja acetylacji mająca miejsce na etapie biosyntezy. Ponadto uzyskane wyniki pokazały, że rośliny z ekspresją wykazują zwiększoną odporność na *Hyaloperonospora arabidopsidis*, co potwierdza znaczenie acetylacji polisacharydów dla odporności roślin na patogeny. Mój udział w tym projekcie polegał na przeprowadzeniu analiz anatomicznych, które pokazały, że rośliny z ekspresją *AnAXE1* mimo zmienionych właściwości chemicznych ścian, nie wykazują żadnych defektów wzrostowych, ani zaburzeń w strukturze drewna.

Dzięki badaniom prowadzonym w ramach tego projektu udało się pokazać po raz pierwszy, że deacetylacja ksylanu z użyciem heterologicznych AXE bezpośrednio w roślinach, znacząco poprawia wydajność fermentacji alkoholowej. W związku z tym post-syntetyczna modyfikacja polimerów ściany komórkowej jest obiecującą metodą w dziedzinie produkcji biopaliw.

Oprócz opisanych wyżej prac oryginalnych i przeglądowych, wyniki moich badań były prezentowane na wielu konferencjach krajowych i zagranicznych w formie wystąpień ustnych lub posterowych (łącznie 25 doniesień konferencyjnych). Współpracuję także z czasopismami naukowymi takimi jak *Journal of Experimental Botany*, *Plant Physiology and Biochemistry*,

Acta Physiologiae Plantarum, Acta Societatis Botanicorum Poloniae, American Journal of Botany i *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, wykonując dla nich recenzje artykułów naukowych.

Podczas mojej pracy badawczej kierowałam kilkoma projektami, w tym dwoma finansowanymi ze źródeł zewnętrznych. Pierwszy z nich realizowany w latach 2008-2011, zatytułowany „*Alternatywny szlak akropetalnego transportu auksyn i jego znaczenie dla organogenezy podczas rozwoju pędu Arabidopsis thaliana*” był finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, natomiast drugi, uzyskany w 2015r. i będący w trakcie realizacji, zatytułowany „*Sygnalizacja auksynowa i funkcja genów AtHB8 i MP/ARF5 w tworzeniu połączeń waskularnych podczas organogenezy u mutantu Arabidopsis pin1*”, uzyskał finansowanie Narodowego Centrum Nauki w ramach programu OPUS. Ten ostatni projekt umożliwił mi połączenie klasycznych metod analiz rozwojowych i fizjologicznych z badaniami na poziomie molekularnym. Brałam również udział w międzynarodowym programie badawczym COST-STSM-E50 „Cell wall macromolecules and reaction wood (CEMARE)”, realizując projekt pt. „*Xyloglucanase activity in situ in developing wood*”, w ramach stypendium wyjazdowego do UPSC, Umea, Szwecja. Ponadto realizowałam staż naukowy w ramach projektu „Innowacyjny transfer”, współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach poddziałania „Wsparcie dla współpracy strefy nauki i przedsiębiorstw”, prowadząc badania, których efektem końcowym było przygotowanie dokumentacji wdrożeniowej dla przedsiębiorstwa.

Podsumowanie aktywności naukowej

Typ Publikacji	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem		
Prace oryginalne			Liczba	IF	Punkty MNiSW
Prace stanowiące osiągnięcie naukowe					
W czasopiśmie z bazy JCR	-	5	5	15.788	180
Razem	-	5	5	15.788	180
Pozostałe prace (bez cyklu habilitacyjnego)					
W czasopiśmie z bazy JCR	1	8	9	30.499	315
W recenzowanych czasopiśmie spoza bazy JCR	-	2	2	-	-
Razem	1	10	11	30.499	315
Całość dorobku					
Razem	1	15	16	46.287	495
Doniesienia konferencyjne krajowe i międzynarodowe (prezentacje ustne i posterowe)	Przed doktoratem		Po doktoracie		Razem
	4		21		25

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

Sumaryczny Impact Factor według Journal Citation Reports (JCR) dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wynosi: **15.788**

Sumaryczna liczba punktów według MNiSW dla prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wynosi: **180**

Sumaryczny Impact Factor według Journal Citation Reports (JCR) dla pozostałych prac (poza cyklem prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne) wynosi: **30.499**

Sumaryczna liczba punktów MNiSW dla pozostałych prac (poza cyklem prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne) wynosi: **315**

Liczba cytowań według Web of Science: **298**; bez autocytowań: **287** (stan z dnia 20.03.2019)

Index Hirscha według Web of Science: **8**

5. Dorobek dydaktyczny i organizacyjny

Od momentu zatrudnienia w Zakładzie Botaniki Ogólnej Uniwersytetu Wrocławskiego (obecnie Zakład Biologii Rozwoju Roślin) na stanowisku asystenta, a później adiunkta, działalność dydaktyczna stanowi ważną część mojej pracy zawodowej. W trakcie mojej pracy miałam okazję prowadzić zajęcia dla wielu różnych kierunków studiów m.in. Biologii, Genetyki i Biologii Eksperymentalnej, Biotechnologii, Chemii, Mikrobiologii, Geografii z Biologią i Ochrony Środowiska, łącznie z około 15 przedmiotów, w tym głównie z: *Biologii komórki roślinnej, Biologii rozwoju roślin, Anatomii rozwojowej roślin, Podstaw budowy roślin, Molekularnych mechanizmów komunikacji u roślin, Biopolimerów roślinnych, Roślin w przyszłości i Technik w biologii eksperymentalnej*. Jestem również współautorką programów wielu z tych przedmiotów włączając w to: *Biopolimery roślinne, Rośliny w przyszłości, Techniki w biologii eksperymentalnej* i laboratorium z *Biologii rozwoju roślin*. Stworzyłam, wspólnie z dr Katarzyną Sokołowską, cały program prowadzonego przez nas przedmiotu dla studiów magisterskich na kierunku Genetyka i Biologia Eksperymentalna – *Molekularne mechanizmy komunikacji u roślin*. Brałam również udział w opracowaniu programu przedmiotu *Biology* dla studentów biotechnologii w języku angielskim. Ponadto zaproponowałam i prowadziłam przez kilka lat wykład monograficzny dla studentów studiów magisterskich pt. *Polarny transport auksyn w procesach rozwojowych u roślin*.

Od wielu lat opiekuję się pracą naukową studentów. Sprawowałam opiekę nad 5 pracami magisterskimi i 3 pracami licencjackimi, wykonywałam również kilka recenzji takich prac. Ponadto sprawowałam opiekę nad wolontariatem i praktykami odbywanymi przez studentów w Zakładzie Biologii Rozwoju Roślin. Obecnie jestem promotorem pomocniczym słuchaczki IV roku studiów doktoranckich na Wydziale Nauk Biologicznych UW.

W ramach podnoszenia moich kompetencji, nie tylko naukowych ale i dydaktycznych, na przełomie lat 2011/2012 odbyłam staż naukowo-dydaktyczny w Departament of Forest Genetics and Plant Physiology, SLU, Umea, Szwecja, w ramach projektu „Rozwój potencjału i oferty edukacyjnej Uniwersytetu Wrocławskiego szansą zwiększenia konkurencyjności Uczelni” finansowanego z programu Kapitał Ludzki Europejskiego Funduszu Społecznego.

Jestem zaangażowana w promocję Wydziału Nauk Biologicznych i Uniwersytetu Wrocławskiego. Prowadzę między innymi odbywające się co roku zajęcia popularyzujące naukę w ramach programu *Mój Pierwszy Uniwersytet*. Brałam również kilkakrotnie udział w przygotowaniu i prowadzeniu warsztatów i pokazów podczas: *Międzynarodowego Dnia Roślin*

(*Fascination of Plants Day*), *Dolnośląskiego Festiwalu Nauki i Nocy Biologów*, a także uczestniczyłam w przygotowaniu i prowadzeniu zajęć, w ramach kursu dokształcającego dla nauczycieli "*Problemy Współczesnej Biologii*".

Od roku 2001 należę do Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin (PTBER) i jako członek komitetu organizacyjnego brałam udział w organizacji V Konferencji PTBER „*Experimental Plant Biology in 3P: Past, Present, Perspectives*”, która odbyła się w 2011 r. we Wrocławiu. Uczestniczyłam również w organizacji sesji tematycznej PTBER "*Ewolucja komórki roślinnej*" (2008) oraz mini-konferencji międzynarodowej "*Development in plants: genes, structures and models*" (2004), które również odbyły się we Wrocławiu.

W ramach mojej działalności na rzecz Uniwersytetu Wrocławskiego dwukrotnie pełniłam funkcje opiekuna studentów studiów licencjackich na kierunku Biologia. Byłam również członkiem Komisji do Spraw Socjalnych. Od 2011 roku wchodziłam w skład grupy roboczej opracowującej nowy program studiów na Wydziale Nauk Biologicznych, a w 2013 r. zostałam oficjalnie powołana do Zespołu ds. utworzenia i wdrożenia programu kształcenia dla kierunku „Genetyka i biologia eksperymentalna” zarówno na poziomie studiów licencjackich jak i magisterskich. Następnie jako członek Zespołu Kierunkowego dla tego kierunku studiów wielokrotnie uczestniczyłam w pracach mających na celu dostosowanie programu kształcenia do zmieniających się wymagań ustawowych. Za moją działalność dydaktyczną dwukrotnie otrzymałam nagrodę Rektora.

Literatura

1. Aloni R, Pradel KS, Ullrich CI (1995) The three-dimensional structure of vascular tissues in *Agrobacterium tumefaciens* induced crown galls and in the host stems of *Ricinus communis* L. *Planta* 196: 597–605
2. Aloni R (2010) The induction of vascular tissues by auxin. In: *Plant Hormones*; Springer: Dordrecht, The Netherlands, pp. 485–518
3. Balzergue C, Dartevelle T, Godon C, et al. (2017) Low phosphate activates STOP1-ALMT1 to rapidly inhibit root cell elongation. *Nature Com* 8, 15300
4. Bamber RK (2001) A general theory for the origin of growth stresses in reaction wood: how trees stay upright. *IAWA J* 22: 205–212.
5. Bayer EM, Smith RS, Mandel T, Nakayama N, Sauer M, Prusinkiewicz P, Kuhlemeier C (2009) Integration of transport-based models for phyllotaxis and midvein formation. *Gene Dev* 23: 373–384
6. Benková E, Michniewicz M, Sauer M, Teichmann T, Seifertová D, Jürgens G, Friml J (2003) Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell* 115: 591–602.
7. Besnard F, Refahi Y, Morin V, Marteaux B, Brunoud G, Chambrier P, Rozier F, Mirabet V, Legrand J, Lainé S, et al. Cytokinin signalling inhibitory fields provide robustness to phyllotaxis. *Nature* 16: 417–421
8. Bhatia N, Heisler MG (2018) Self-organizing periodicity in development: Organ positioning in plants. *Development*, 145
9. Cheng Y, Dai X, Zhao Y (2006) Auxin biosynthesis by the YUCCA flavin monooxygenases controls the formation of floral organs and vascular tissues in *Arabidopsis*. *Genes Dev* 20: 1790–1799
10. del Campillo E (1999) Multiple endo-1,4-β-D-glucanase (cellulase) genes in *Arabidopsis*. *Curr Top Dev Biol* 46: 39 – 61 .
11. Dubrovsky J.G., Soukup A., Napsucialy-Mendivil S., Jekni_c Z., Ivanchenko M.G. (2008) The lateral root initiation index: an integrative measure of primordium formation. *Annals of Botany*, 103, 807–817.
12. Ferro N, Bredow T, Jacobsen H-J, Reinard T (2010) Route to novel auxin: auxin chemical space toward biological correlation carriers. *Chem Rev* 110: 4690–4708.
13. Gälweiler L, Guan C, Müller A, Wisman E, Mendgen K, Yephremov A, Palme K (1998) Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in *Arabidopsis* vascular tissue. *Science* 282: 2226–2230.
14. Guenet B, Bayer E, Kierzkowski D, Smith RS, Mandel T, Zádňíková P, Benková E, Kuhlemeier C (2012) PIN1-Independent Leaf Initiation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 159: 1501–1510.
15. Kierzkowski D, Lenhard M, Smith R, Kuhlemeier C (2013) Interaction between meristem tissue layers controls phyllotaxis. *Dev Cell* 26: 616–628
16. Kuhlemeier C (2007) Phyllotaxis. *Trends Plant Sci* 12: 143–150.
17. Larrieu A, Vernoux T (2015) Comparison of plant hormone signalling systems. *Essays Biochem* 58: 165–181: doi:10.1042/BSE0580165
18. Lucas WJ, Groover A, Lichtenberger R, Furuta K, Yadav SR, Helariutta Y, He XQ, Fukuda H, Kang J, Brady SM, Patrick JW, Sperry J, Yoshida A, López-Millán AF, Grusak MA, Kachroo P (2013) The plant vascular system: evolution, development and functions. *J Integr Plant Biol* 55: 294–388

19. Manabe Y, Verhertbruggen Y, Gille S, Harholt J, Chong SL, Pawar PMA, Mellerowicz EJ, Tenkanen M, Cheng K, Pauly M, Scheller HV (2013) Reduced wall acetylation proteins play vital and distinct roles in cell wall O-Acetylation in Arabidopsis. *Plant Physiol* 163: 1107–1117
20. Mattsson J, Sung ZR, Berleth T (1999) Responses of plant vascular systems to auxin transport inhibition. *Development* 126: 2979–2991
21. Mattsson J, Ckurshumova W, Berleth T (2003) Auxin signaling in Arabidopsis leaf vascular development. *Plant Physiol* 131: 1327–1339
22. Mellerowicz EJ, Gorshkova TA (2012) Tensional stress generation in gelatinous fibres: a review and possible mechanism based on cell-wall structure and composition. *J Exp Bot* 63: 551–565
23. Ohmiya Y, Nakai T, Park YW, Aoyama T, Oka A, Sakai F, et al. (2003) The role of PopCel1 and PopCel2 in poplar leaf growth and cellulose biosynthesis. *Plant J* 33: 1087 – 1097
24. Pařízková B, Pernisová M, Novák O (2017) What Has Been Seen Cannot Be Unseen—Detecting Auxin In Vivo. *Int J Mol Sci* 18(12), 2736; <https://doi.org/10.3390/ijms18122736>
25. Poulet A, Kriechbaumer V (2017) Bioinformatics Analysis of Phylogeny and Transcription of TAA/YUC Auxin Biosynthetic Genes. *Int J Mol Sci* 18, 1791.
26. Radhika V, Ueda N, Tsuboi Y, Kojima M, Kikuchi J, Kudo T, Sakakibara H (2015) Methylated cytokinins from the pathogen *Rhodococcus fascians* mimic plant hormone activity. *Plant Physiol* 169: 1118–1126
27. Reinhardt D, Mandel T, Kuhlemeier C (2000) Auxin regulates the initiation and radial position of plant lateral organs. *Plant Cell* 12: 507–518
28. Reinhardt D, Pesce ER, Stieger P, Mandel T, Baltensperger K, Bennett M, Traas J, Friml J, Kuhlemeier C (2003) Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. *Nature* 426: 255–260
29. Rose JKC, Braam J, Fry SC, Nishitani K (2002) The XTH family of enzymes involved in xyloglucan endotransglucosylation and endohydrolysis: current perspectives and a new unifying nomenclature. *Plant Cell Physiol* 43: 1421–1435
30. Sabatini S, Beis D, Wolkenfelt H, Murfett J, Guilfoyle T, Malamy J, Benfey P, Leyser O, Bechtold N, Weisbeek P, Scheres B (1999) An auxin-dependent distal organizer of pattern and polarity in the Arabidopsis root. *Cell*, 99: 463–472.
31. Sack L, Scoffoni C (2013) Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. *New Phytol* 198: 983–1000
32. Sassi M, Vernoux T (2013) Auxin and self-organization at the shoot apical meristem. *J Exp Bot* 64: 2579–2592
33. Scarpella E (2017) The logic of plant vascular patterning. Polarity, continuity and plasticity in the formation of the veins and of their networks. *Curr Opin Genet Dev* 45: 34–43
34. Stes E, Francis I, Pertry I, Dolzblasz A, Depuydt S, Vereecke D (2013) The leafy gall syndrome induced by *Rhodococcus fascians*. *FEMS Microbiol Lett* 342: 187–19
35. Swarup R, Friml J, Marchant A, Ljung K, Sandberg G, Palme K, Bennett M (2001) Localization of the auxin permease AUX1 suggest two functionally distinct hormone transport pathways operate in the Arabidopsis root apex. *Gene Dev* 15: 2648–2653
36. Taylor NG (2008) Cellulose biosynthesis and deposition in higher plants. *New Phytol* 178 : 239 – 252.
37. Ullrich CI, Aloni R (2000) Vascularization is a general requirement for growth of plant and animal tumours. *J Exp Bot* 51: 1951–1960
38. Wiśniewska J, Xu J, Seifertová D, Brewer PB, Ruzicka K, Blilou I, Rouquié D, Benková E, Scheres B, Friml J, et al. (2006) Polar PIN localization directs auxin flow in plants. *Science* 312, 883.
39. Vanneste S, Friml J (2009) Auxin: A Trigger for Change in Plant Development. *Cell* 136, DOI 10.1016/j.cell.2009.03.001
40. Xiong GY, Cheng K, Pauly M (2013) Xylan O-acetylation impacts xylem development and enzymatic recalcitrance as indicated by the Arabidopsis mutant tbl29. *Mol Plant* 6: 1373–1375.
41. Zhao Y (2012) Auxin Biosynthesis: A Simple Two-Step Pathway Converts Tryptophan to Indole-3-Acetic Acid in Plants. *Mol Plant* 5: 334–338.

A. Buerkiel