



UNIWERSYTET ROLNICZY
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

AUTOREFERAT

DR INŻ. BARBARA TOKARZ, PROF. URK

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa
Katedra Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin

1. Imię i nazwisko:

Barbara Tokarz (*panieńskie* Piwowarczyk)

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

2012 *Dyplom Studium Pedagogicznego* dla nauczycieli akademickich, Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki w Krakowie, Studium Pedagogiki i Psychologii

2011 *Doktor nauk rolniczych* w zakresie ogrodnictwa, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie; Wydział Ogrodniczy.

Tytuł rozprawy doktorskiej:

„Techniki *in vitro* w rozmnażaniu lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.)”

Promotor: Prof. dr hab. Anna Pindel

Recenzenci: Prof. dr hab. Adela Adamus

Prof. dr hab. Franciszek Dubert

2006 *Magister inżynier ogrodnictwa* – specjalizacja genetyka, hodowla i biotechnologia roślin; Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Ogrodniczy.

Tytuł pracy:

„Ocena rozwoju protoplastów marchwi (*Daucus carota* L.) na pożywcę z dodatkiem filtratu pokulturowego z *Alternaria radicina*”

Promotor: dr hab. Ewa Grzebelus, prof. URK

Recenzent: prof. dr hab. Anna Pindel

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

od X.2020 Profesor URK w Katedrze Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin, Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytetu Rolniczego *im. Hugona Kołłątaja* w Krakowie

2019-2020 Adiunkt w Katedrze Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin, Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytetu Rolniczego *im. Hugona Kołłątaja* w Krakowie

2013-2019 Adiunkt w Zakładzie Botaniki i Fizjologii Roślin, Instytutu Biologii Roślin i Biotechnologii, Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytetu Rolniczego *im. Hugona Kołłątaja* w Krakowie

2011-2013 Asystent w Katedrze Botaniki i Fizjologii Roślin, Wydziału Ogrodniczego, Uniwersytetu Rolniczego *im. Hugona Kołłątaja* w Krakowie

W 2021-2022 przebywałam na zwolnieniu lekarskim (3 miesiące). Obecnie przebywam na urlopie macierzyńskim (od 02.2022).

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

Potencjalne mechanizmy odpowiedzi lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.) na stres suszy i zasolenia

b) publikacje wchodzące w zakres osiągnięcia naukowego

1. **Piwowarczyk (Tokarz), B.**[✉], Kamińska, I., & Rybiński, W. (2014). Influence of PEG generated osmotic stress on shoot regeneration and some biochemical parameters in *Lathyrus* culture. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 50(2), 77-83. <https://doi.org/10.17221/110/2013-CJGPB>

IF₂₀₁₄:	0,364
IF _{5-letni} :	0,535
MNiSW₂₀₁₄:	15pkt.
liczba cytowań WoS:	21
liczba cytowań Scopus:	26

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na zaprojektowaniu doświadczeń, prowadzeniu kultur *in vitro* badanych roślin, pomiarach biometrycznych i analizach fizjologicznych zebranego materiału, analizie statystycznej wyników i przygotowaniu graficznej części manuskryptu, interpretacji i dyskusji wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu artykułu przed złożeniem do Redakcji, odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz poprawie zrecenzowanego manuskryptu.

2. **Piwowarczyk (Tokarz), B.**[✉], Tokarz, K., & Kamińska, I. (2016). Responses of grass pea seedlings to salinity stress in *in vitro* culture conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 124(2), 227-240. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0887-z>

IF₂₀₁₆:	2,002
IF _{5-letni} :	2,001
MNiSW₂₀₁₆:	30pkt.
liczba cytowań WoS:	31
liczba cytowań Scopus:	29

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na zaprojektowaniu doświadczeń, prowadzeniu kultur *in vitro* badanych roślin, pomiarach biometrycznych i analizach fizjologicznych i biochemicznych zebranego materiału, analizie statystycznej wyników i przygotowaniu graficznej części manuskryptu, interpretacji i dyskusji wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu artykułu przed złożeniem do Redakcji, odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz poprawie zrecenzowanego manuskryptu.

3. **Piwowarczyk (Tokarz), B.**[✉], Tokarz, K., Makowski, W., & Łukasiewicz, A. (2017). Different acclimatization mechanisms of two grass pea cultivars to osmotic stress in *in vitro* culture. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(4), 96. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2389-6>

IF₂₀₁₇:	1,438
IF _{5-letni} :	1,691
MNiSW₂₀₁₇:	25pkt.
liczba cytowań WoS:	13
liczba cytowań Scopus:	15

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na zaprojektowaniu doświadczeń, merytorycznym i technicznym nadzorze nad prowadzeniem kultur *in vitro* badanych roślin, pomiarami biometrycznych i analizami fizjologicznymi i biochemicznymi zebranego materiału, analizie statystycznej wyników i przygotowaniu graficznej części manuskryptu, interpretacji i dyskusji wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu artykułu przed złożeniem do Redakcji, odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz poprawie zrecenzowanego manuskryptu.

4. **Tokarz, B.**✉, Wójtowicz, T., Makowski, W., Jędrzejczyk, R. J., & Tokarz, K. M. (2020). What is the Difference between the Response of Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.) to Salinity and Drought Stress?—A Physiological Study. *Agronomy*, 10(6), 833. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060833>

IF₂₀₂₀:	3,417
IF _{5-letni} :	3,640
MNiSW₂₀₂₀:	100pkt.
liczba cytowań WoS:	12
liczba cytowań Scopus:	13

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na zaprojektowaniu doświadczeń, merytorycznym i technicznym nadzorze nad prowadzeniem kultur *in vitro* badanych roślin, pomiarami biometrycznych i analizami fizjologicznymi i biochemicznymi zebranego materiału, analizie statystycznej wyników i przygotowaniu graficznej części manuskryptu, interpretacji i dyskusji wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu artykułu przed złożeniem do Redakcji, odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz poprawie zrecenzowanego manuskryptu

Podsumowanie naukometryczne cyklu publikacji:

IF sumaryczny:	7,221
MNiSW sumaryczna 2014-2020:	170 pkt.
Liczba cytowań	77_{wg Web of Science}
	83_{wg Scopus}
	(stan na 14.10.2022)

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. prac i osiągniętych wyników

Wprowadzenie

W produkcji roślinnej najważniejszymi czynnikami ograniczającymi produktywność upraw są stresy środowiskowe. Zakłócenia w gospodarce wodnej roślin spowodowane suszą, i zasoleniem są głównymi czynnikami obniżającymi plon [Jaleel i in. 2009]. Co ważniejsze, rosnąca populacja ludzka oraz globalne zmiany klimatyczne powodują, że deficyt wody staje się coraz bardziej znaczący [Dai 2013]. Według Światowej Rady Wodnej około 66% zużywanej wody jest wykorzystywane do nawadniania (w regionach suchych nawet do 90%). Tak duże zużycie wody stanowi poważny problem dla produkcji roślinnej w przyszłości. Dodatkowo, zwiększanie produkcji żywności poprzez powiększanie powierzchni upraw stanie się w przyszłości wyzwaniem ze względu na postępującą degradację gleb, zwłaszcza ich zasolenie [Wild 2003]. Negatywne skutki zasolenia obejmują nie tylko niską produkcję rolną i

niskie dochody z powodu wysokich kosztów produkcji, remediacji, zarządzania itp. ale także erozję gleby i brak równowagi ekologicznej [Hu i Schmidhalter 2002].

W celu osiągnięcia i utrzymania bezpieczeństwa żywnościowego konieczne jest poszukiwanie roślin uprawnych o wrodzonej odporności na stresy abiotyczne, które stanowią mogą rozwiązanie problemu niekorzystnych warunków klimatycznych i glebowych. Drugim po zbożach najważniejszym źródłem żywności są rośliny strączkowe [Maphosa i Jideani 2017; Martín-Cabrejas 2019]. Rośliny strączkowe są cenione ze względu na wartości odżywcze - wysoką zawartość białka w nasionach, jak i zdrowotne - zawartość związków bioaktywnych [Martín-Cabrejas 2019]. Ponadto w biedniejszych regionach świata stanowią tani zamiennik mięsa. Co więcej uprawa roślin strączkowych, ze względu na dobrze znaną zdolność symbiozy z bakteriami brodawkowymi, wzbogaca glebę w azot, poprawia żyzność zasolonych gleb i umożliwia ponowne wprowadzenie rolnictwa na terenach zdegradowanych. Przy poszukiwaniu gatunków, zdolnych do przetrwania stresów abiotycznych należy brać pod uwagę także zdolność tych roślin do zachowania wysokiej produktywności w trakcie trwania stresu. Spośród roślin bobowatych, gatunkiem wyróżniającym się dużą tolerancją na suszę i zasolenie oraz wysokim plonowaniem w tych warunkach jest lędźwian siewny (*Lathyrus sativus* L.). Lędźwian siewny jest mało znaną rośliną uprawną, zaliczaną do grubonasiennych roślin strączkowych (rodzina botaniczna: bobowate/*Fabaceae*). Mimo, że jest jedną z najstarszych udomowionych roślin w Europie (tj. od około 6000 lat p.n.e.) [Kislev 1989], obecnie jest zaniedbywany przez hodowców i niewykorzystywany przez rolników [Vaz Patto i Rubiales 2014]. Roślina ta, podobnie jak inne bobowate, wytwarza nasiona w których główny materiał zapasowy stanowi białko. Zawartość białka w nasionach lędźwianu siewnego waha się między 20 a 30% [Barbete i in. 2020; 2021; Tamburino i in. 2012] i jest na podobnym poziomie lub wyższa niż w nasionach ciecierzycy, grochu czy bobu [Yan i in. 2006]. Również skład aminokwasowy białka lędźwianu jest bardzo korzystny gdyż zawiera od 3,96 do 9,58 g lizyny na 100 g białka [Korus i in. 2002]. Niestety, poza niekwestionowanymi zaletami, lędźwian siewny wykazuje także cechy niekorzystne. Długotrwałe spożywanie w dużych ilościach nasion lędźwianu prowadzi do uszkodzenia systemu nerwowego ludzi i zwierząt, powodując nieodwracalny paraliż kończyn. W krajach Trzeciego Świata, w których lędźwian stanowi podstawę diety, klęskom głodu i nieurodzaju towarzyszą epidemie latyryzmu. Stosowany jako dodatek nie grozi zatruciem, o czym świadczy stan zdrowia mieszkańców Podlasia, od wieków spożywających lędźwian w różnej postaci [Milczak i Masłowski 1993]. Czynnikiem wywołującym chorobę, nazwaną latyryzmem, bądź neurolatyryzmem, jest toksyczny związek: kwas β -N-oksalylo-L- α , β -dwuaminopropionowy (ODAP). Upowszechnienie lędźwianu w praktyce rolniczej zależy także od poprawienia szeregu innych niekorzystnych cech m.in.: niezdeterminowanego charakteru wzrostu, skłonności do płożenia, wylegania i późnego dojrzewania [Rybiński 2003, Rybiński i in. 2005]. W latach 90. XX w. w Polsce ponownie uruchomiono program hodowlany lędźwianu, który zaowocował dwoma odmianami: 'Derek' i 'Krab', wprowadzonymi w 1997 r. do Rejestru Odmian Oryginalnych [Milczak i Masłowski 1993, Milczak i in. 2001]. Są to jedyne odmiany polskie tego gatunku.

Niedobór wody, jest stresem występującym zarówno w warunkach suszy jak i zasolenia. Choć pojęcie suszy jest pojęciem bardzo szerokim obejmującym niedobory wody wynikające ze zjawisk meteorologicznych, w prezentowanym osiągnięciu, jest zawężone do

suszy fizjologicznej – wynikającej z braku dostępności wody dla roślin z powodu obniżonego potencjału wodnego środowiska w którym kultywowane były rośliny. Niedobór wody prowadzi do poważnych zaburzeń w procesach metabolicznych komórek roślinnych wywołując zahamowanie wzrostu, a w konsekwencji zmniejszenie plonu. Głównymi skutkami deficytu wody w komórkach są: obniżenie potencjału wodnego, wzrost stężenia związków w soku komórkowym, obniżenie ciśnienia turgorowego komórki oraz zmiany w strukturze i konformacji makrocząsteczek [Munns 2011]. Zaburzone zostają procesy fizjologiczne i biochemiczne, takie jak fotosynteza, oddychanie, translokacja asymilatów, pobór jonów, metabolizm węglowodanów, metabolizm składników odżywczych [Jaleel i in. 2009]. Zasolenie gleby generuje dodatkowo stres chemiczny wynikający z nagromadzenia szkodliwych jonów (Na^+ i Cl^-) w toksycznych stężeniach [Munns 2011]. Reakcje roślin na stres wywołany niedoborem wody i nadmiarem toksycznych jonów różnią się istotnie na różnych poziomach organizacyjnych w zależności od intensywności i czasu trwania stresu, a także gatunku rośliny i jej fazy wzrostu. W odpowiedzi na stres rośliny dostosowują swój metabolizm wykorzystując różne mechanizmy.

Rośliny, będąc organizmami ‘osiadłymi’, wykształciły dwa ogólne mechanizmy, które pozwalają im przetrwać stresy środowiskowe: unikanie stresu i tolerancję na stres [Salehi-Lisar i Bakhshayeshan-Agdam 2016]. Zdolność roślin do przetrwania stresu osmotycznego i solnego przejawia się na różnych poziomach organizacji roślinnej: od komórek (reakcje molekularne, biochemiczne i fizjologiczne) do całego organizmu (reakcje fizjologiczne, morfologiczne i fenologiczne) [Saxena i in. 2019, Salehi-Lisar i Bakhshayeshan-Agdam 2016]. Mechanizmy tolerancji na stres osmotyczny opierają się na zwiększeniu stosunku korzenia do pędu (zwiększenie chłonnej powierzchni korzenia), ograniczeniu utraty wody (zamknięcie aparatów szparkowych), akumulacji osmotolitów (obniżenie potencjału wodnego komórki umożliwiające pobranie wody z roztworu glebowego) oraz usunięciu efektów stresu oksydacyjnego (aktywacja enzymatycznych i nieenzymatycznych antyoksydantów) [Saxena i in. 2019, Salehi-Lisar i Bakhshayeshan-Agdam 2016]. Do podstawowych mechanizmów tolerancji na stres solny należy wykluczenie soli, polegające na ograniczeniu transportu szkodliwych jonów do liści. Realizowane jest to najczęściej poprzez selektywne pobieranie jonów przez korzenie i zatrzymywanie ich w dolnej części rośliny lub ich kompartmentację w wakuolach, jeśli dotrą do liści [Munns 2002, 2011; Munns i Tester 2008]. Chociaż wzrost roślin jest ograniczany głównie przez skutki stresu wodnego, to w przypadku stresu chemicznego rośliny należące do kategorii "wrażliwych na sól" doświadczają dodatkowo zmniejszenia produkcji asymilatów i dalszego zahamowania wzrostu [Munns 2002]. Aby móc właściwie wykorzystać potencjał odporności roślin w hodowli, konieczne jest zrozumienie, jakie mechanizmy leżą u podstaw odpowiedzi na dany rodzaj stresu [Munns 2011]. Badania nad tolerancją roślin na stres opierają się głównie na określeniu czynników genetycznych. Ponadto zainteresowania naukowców koncentrują się na określeniu czynników regulujących i kontrolujących, które wpływają na metabolizm komórek w warunkach stresowych oraz na poznaniu mechanizmów transdukcji sygnałów i adaptacji roślin do warunków stresowych. Jednakże, biorąc pod uwagę złożoność tych mechanizmów, jesteśmy dalecy od pełnego zrozumienia abiotycznej tolerancji roślin, pomimo wielu lat badań [Farooq et al. 2009]. Dodatkowo, badania nad reakcjami roślin na stres prowadzone są intensywnie, ale głównie na roślinach modelowych, takich jak *Arabidopsis thaliana*. Biorąc pod uwagę procesy

fizjologiczne, które różnią się między roślinami, możemy oczekiwać, że badania nad roślinami strączkowymi pozwolą na odkrycie specyficznych mechanizmów zaangażowanych w odporność/tolerancję na stresy abiotyczne [Reddy i in. 2012].

Cel badań

Głównym celem cyklu publikacji stanowiących treść niniejszego osiągnięcia naukowego było opisanie potencjalnych mechanizmów, na poziomie fizjologicznym i biochemicznym, prowadzących do aklimatyzacji roślin lędźwianu siewnego w warunkach suszy i zasolenia.

W doświadczeniach wykorzystano zróżnicowany materiał roślinny obejmujący różne linie rodzaju *Lathyrus*, oraz mutanty i odmiany lędźwianu siewnego (*L. sativus* L.).

Warunki stresowe jakim poddawane były rośliny generowano w kulturach *in vitro* aby wyeliminować wpływ innych niekorzystnych czynników (skrajne temperatury, patogeny, zmienne natężenie światła itp.).

Omówienie szczegółowych celów i wyników prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Szczegółowe cele

Badania nad odpowiedzią lędźwianu siewnego na stres suszy i zasolenia, opisywane w niniejszym osiągnięciu podzielono na 4 etapy, przedstawione w oddzielnych publikacjach. Kolejne etapy pozwalały na wybór coraz mniejszej liczby obiektów, na których przeprowadzano bardziej szczegółowe badania. W pierwszym etapie badań, opisanych w publikacji **Piowarczyk i in. (2014)** skupiono się na selekcji kilku obiektów z rodzaju *Lathyrus* pod kątem tolerancji na stres suszy (osmotyczny). W drugim etapie, opisanym w publikacji **Piowarczyk i in. (2016)**, badano odpowiedź polskich odmian i mutantów *L. sativus* na stres zasolenia. W trzecim etapie/publikacji (**Piowarczyk i in. 2017**), analizowano przebieg aklimatyzacji siewek polskich odmian *L. sativus* do stresu osmotycznego (suszy). W czwartym, ostatnim etapie, opisanym w publikacji **Tokarz i in. (2020)**, porównano strategię aklimatyzacji lędźwianu siewnego polskiej odmiany Krab do stresu osmotycznego (suszy) i chemicznego (zasolenia).

W pierwszej pracy (**Piowarczyk i in. 2014**) wchodzącej w skład niniejszego osiągnięcia naukowego celem badań było określenie wpływu stresu osmotycznego na zdolność regeneracji pędów oraz na niektóre parametry morfologiczne, fizjologiczne i biochemiczne ośmiu linii rodzaju *Lathyrus*. Materiał roślinny w doświadczeniu stanowiły nasiona z kolekcji Marginalnych Roślin Strączkowych, Instytutu Genetyki Roślin PAN, które uzyskano dzięki uprzejmości prof. dr hab. Wojciecha Rybińskiego. Do badań wybrano trzy gatunki rodzaju *Lathyrus*: *L. sativus*, *L. cicera* i *L. tingitanus*. Lędźwian siewny (*L. sativus*) reprezentowany był przez dwie polskie odmiany: Derek i Krab, dwa mutanty, D4 i K12, wyprowadzone z odmian oryginalnych po mutagenezie chemicznej [Rybiński 2003] oraz dwie linie pochodzącą z Niemiec (LAT 444) i Francji (LAT B 1705), *L. cicera* przez jedną linię z Grecji (LAT 209/84), a lędźwian afrykański (*L. tingitanus*) przez jedną linię nieznanego pochodzenia (LAT 109/74). Stres osmotyczny indukowano dodając do pożywki glikol polietylenowy (PEG-6000) w stężeniu 50, 100 i 150 g/l. PEG, charakteryzujący się wysoką masą cząsteczkową, jest niepobierany przez rośliny i całkowicie dla nich obojętny,

skutecznie obniża potencjał wodny pożywek, imitując suszę w warunkach *in vitro* [Rai et al. 2011]. Ocenę wpływu zastosowanego czynnika stresowego na rośliny przeprowadzono po 4 tygodniach kultury.

W drugiej, opisywanej w niniejszym osiągnięciu, publikacji (**Piwowarczyk i in. 2016**) celem badań było określenie możliwych procesów adaptacyjnych do stresu zasolenia u lędźwianu siewnego na podstawie mechanizmów fizjologicznych opisywanych u innych gatunków roślin uprawnych. Materiał do badań stanowiły, wybrane na podstawie wyników pierwszej publikacji (**Piwowarczyk i in. 2014**), nasiona dwóch polskich odmian lędźwianu siewnego: Derek i Krab oraz dwóch mutantów wyprowadzonych z tych odmian: D4 i K12 (Rybiński 2003). Stres zasolenia generowano dodając do pożywki NaCl w trzech stężeniach: 50, 100 i 200 mM. Kontrolę stanowiła pożywka bez dodatku chlorku sodu.

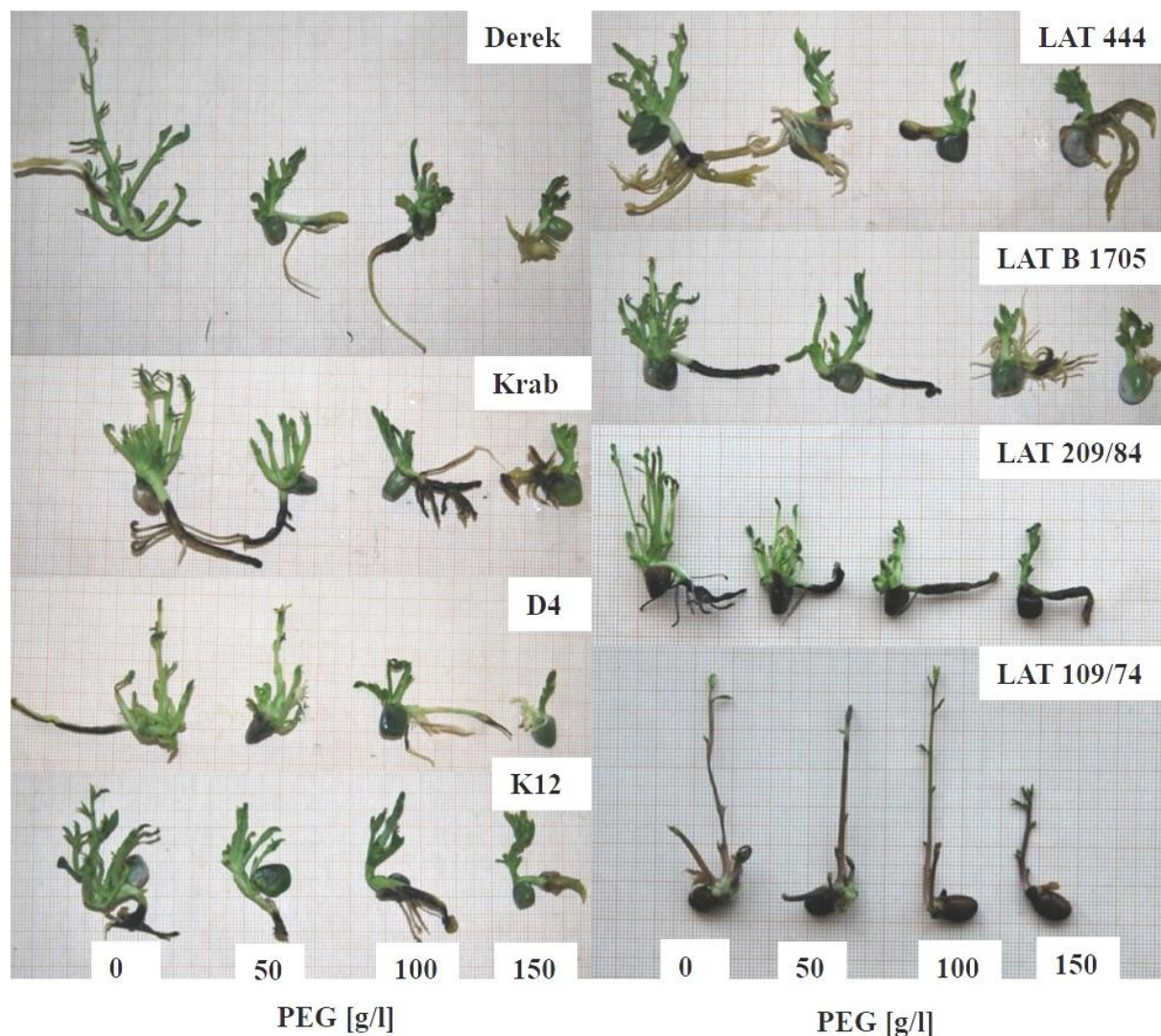
W trzeciej pracy (**Piwowarczyk i in. 2017**) badano: (1) reakcję siewek lędźwianu na stres osmotyczny generowany *in vitro* przez glikol polietylenowy (PEG); (2) potencjalne mechanizmy aklimatyzacji do suszy dwóch polskich odmian lędźwianu. Nasiona lędźwianu siewnego odmian Derek i Krab wysiewano na pożywki zawierające różne stężenia PEG (0, 5,5, 11,0 mM) i kultywowano przez 14 dni w warunkach kontrolowanych.

Celem badań czwartej publikacji (**Tokarz i in. 2020**) była ocena odpowiedzi lędźwianu siewnego na stres generowany przez PEG (imitujący suszę) i NaCl (imitujący zasolenie), generujący taki sam potencjał osmotyczny pożywki. Na podstawie wcześniejszych badań, w pracy tej postawiono hipotezę, że aklimatyzacja lędźwianu siewnego do stresu suszy i zasolenia wynika z odmiennych mechanizmów fizjologicznych. Według wiedzy autorów, były to pierwsze badania, w których bezpośrednio porównano odpowiedź lędźwianu na te dwa stresory. Stężenia NaCl i PEG były tak dobrane, aby wytworzyć potencjał osmotyczny pożywek na poziomie 0,0, -0,45 i -0,65 MPa. Uzyskano to dodając odpowiednio 0, 17,5 i 22,0 mM PEG i 0, 100 i 150 mM NaCl. Na podstawie wcześniejszych prac, do doświadczenia wybrano lędźwian siewny odm. Krab.

Uzyskane wyniki

W pierwszej publikacji (**Piwowarczyk i in. 2014**) wpływ czynnika selekcyjnego oceniano poprzez analizę tempa regeneracji pędów oraz ich wigoru, procentową zawartość suchej masy w pędach, akumulację proliny oraz zawartość i stosunek barwników fotosyntetycznych. Porównanie wydajności regeneracji pędów na pożywkach z i bez dodatku PEG wykazało negatywny wpływ tego stresora na szybkość namnażania pędów (Ryc. 1). Co ciekawe tempo namnażania pędów na pożywce kontrolnej było istotnie różne między badanymi genotypami, ale na pożywkach zawierających PEG różnice te zacierały się. Niemniej jednak namnażanie pędów u badanych genotypów były istotnie niższe na pożywce z czynnikiem selektywnym niż na odpowiadającym ich pożywkach kontrolach. Chociaż, przy najniższym poziomie PEG (50 g/l), liczba pędów na eksplantat była istotnie zmniejszona tylko u *L. cicera* i *L. sativus* 'Derek'. Natomiast wyższe stężenia czynnika selektywnego (100 i 150 g/l PEG) wpływały hamująco na zdolność regeneracji wszystkich badanych obiektów z wyjątkiem odm. Krab na pożywce z dodatkiem 100 g/l PEG. Ponadto, warunki suszy generowane przez PEG istotnie wpływały na wigor regenerowanych pędów wyrażony poprzez współczynnik biorący pod uwagę liczbę pędów o długości powyżej 1 cm. Najniższe zastosowane stężenie PEG (50g/l) obniżało wigor pędów tylko w odm. Derek. Natomiast dodatek 100 g/l PEG zmniejszał wigor u badanych genotypów z wyjątkiem odm. Krab,

mutanta K12 i linii LAT 444 (Ryc. 1). Niemniej jednak, gdy poziom PEG w pożywce został zwiększony do 150 g/l, wigor spadał u wszystkich badanych genotypów w porównaniu do kontroli. Co ciekawe nie obserwowano istotnych różnic między genotypami.

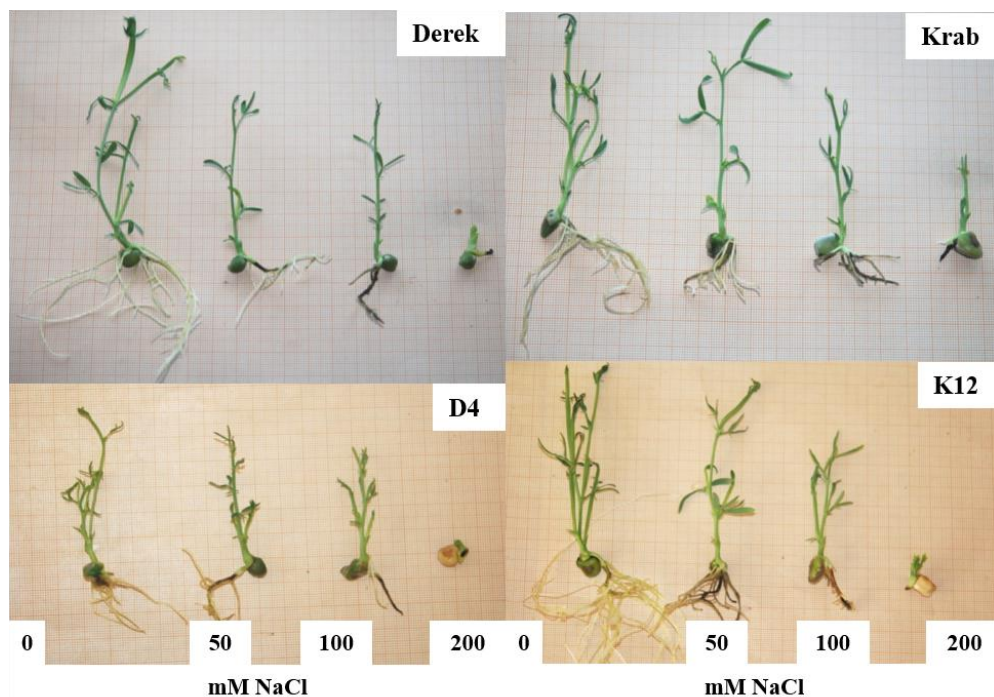


Ryc. 1. Morfologia pędów i korzeni roślin z rodzaju *Lathyrus* w zależności od stężenia glikolu polietylenowego w pożywce. *L. sativus*: Derek, Krab, D4, K12 LAT 444, LAT B 1705; *L. cicera*: LAT 209/84; *L. tingitanus*: LAT 109/74.

Warunki stresowe, zwłaszcza wyższe zastosowane stężenia PEG (100 i 150 g/l), istotnie zwiększały suchą masę zregenerowanych pędów w porównaniu z kontrolą. Analiza zawartości proliny wykazała istotny wzrost jej akumulacji w pędach u prawie wszystkich badanych gatunków *Lathyrus* w warunkach stresu osmotycznego indukowanego wyższymi dawkami PEG. Generalnie, na pożywce kontrolnej polskie mutanty lędwianu siewnego oraz obiekty pochodzące z Europy Zachodniej charakteryzowały się wyższą zawartością proliny niż polskie odmiany lędwianu siewnego oraz *L. cicera* i *L. tingitanus*. O ile na pożywce z najmniejszym dodatkiem PEG tendencja ta była mniej więcej taka sama, to na pożywce z największą zawartością PEG odmiany lędwianu siewnego gromadziły znacznie więcej proliny niż mutanty lędwianu siewnego. Z kolei, analiza zawartości barwników fotosyntetycznych wykazała, że całkowita zawartość chlorofilu (Chl *a+b*) spadała tylko u

dwóch genotypów *Lathyrus* w warunkach stresu osmotycznego (Krab i K12). Natomiast zawartość karotenoidów wzrosła istotnie tylko w pędach LAT 444 przy wszystkich trzech poziomach stresu osmotycznego. Najwyższy poziom stresu osmotycznego (150 g PEG/l) w kulturze *Lathyrus* indukował wzrost stosunku Chl *a*/ Chl *b* w pędach czterech badanych linii (Krab, K12, D4 i LAT B1705). Nie zaobserwowaliśmy natomiast istotnych zmian w stosunku Car/Chl *a+b* u różnych obiektów *Lathyrus* w warunkach różnego poziomu stresu osmotycznego.

W drugiej publikacji (**Piowarczyk i in. 2016**) odpowiedź wybranych genotypów na zastosowany czynnik stresowy (NaCl) oceniano na podstawie: procentu kiełkowania nasion oraz pojawiania się pędu (ang. seedling emergence), długości oraz zawartości suchej masy pędów i korzeni, a także integralności błon komórkowych (metodą wycieku elektrolitów), zawartości proliny, aktywności enzymów antyoksydacyjnych, zawartości związków fenolowych i zawartości barwników fotosyntetycznych. W opisywanych w publikacji badaniach obserwowano spadek procentu kiełkowania nasion do poziomu 78-87,5 % w warunkach najsilniejszego stresu zasolenia (200 mM) u trzech badanych genotypów (Derek, K12 i Krab). Z kolei, stres generowany przez takie stężenie NaCl, powodował istotny spadek procentu pojawiania się pędu u wszystkich badanych genotypów lędźwianu siewnego. Niemniej jednak u odmiany Krab pędy pojawiały się na prawie 60% nasion, podczas gdy u pozostałych badanych genotypów na poniżej 40% nasion. Pędy i korzenie siewek lędźwianu były istotnie krótsze w warunkach zasolenia w porównaniu do warunków kontrolnych (Ryc. 2). Jednakże korzenie lędźwianu ulegały silniejszemu skróceniu niż pędy, chociaż różnice te zacierają się przy 200 mM NaCl (Ryc. 2). Bardzo słaby wzrost pędu i korzenia przy najwyższym zastosowanym stężeniu soli uniemożliwił przeprowadzenie pozostałych analiz na tym materiale, dlatego pozostałe wyniki dotyczą siewek ze stężenia 50 i 100 mM NaCl.

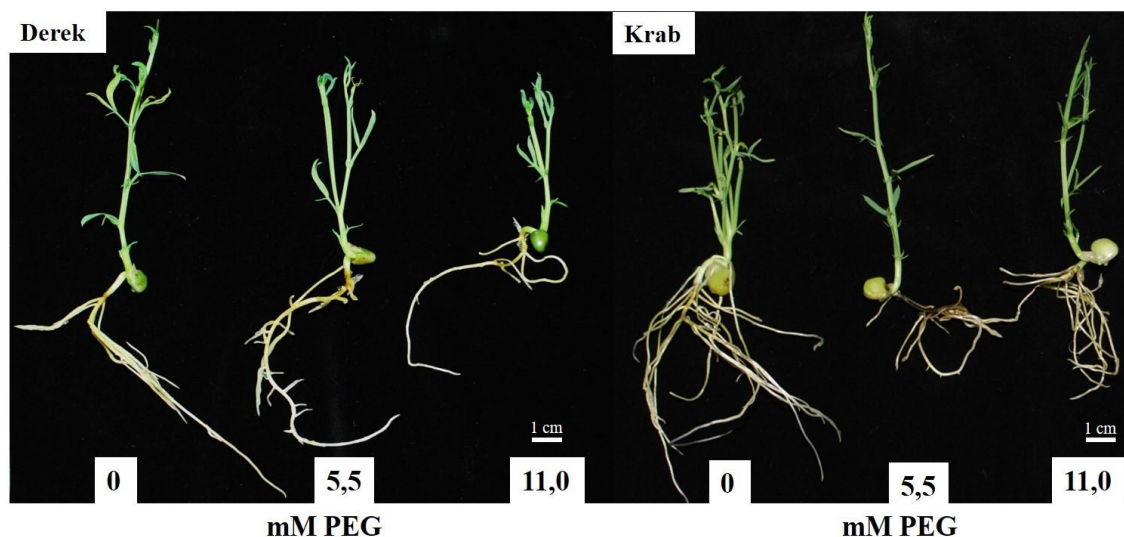


Ryc. 2. Morfologia pędów i korzeni siewek *L. sativus*: Derek, Krab, D4, K12 w zależności od stężenia NaCl w pożywce.

Procentowa zawartość suchej masy w pędach i korzeniach badanych genotypów nie zmieniała się w warunkach zasolenia względem kontroli, z wyjątkiem korzeni odm. Krab i mutantu D4 na pożywce z dodatkiem 100 mM NaCl, gdzie istotnie wzrastała. Z kolei ocena integralności błon plazmatycznych, metodą wycieku elektrolitów, wykazała, że następowało uszkodzenie błon wraz ze wzrastającym zasoleniem pożywek (następował wzrost wycieku elektrolitów). Co ciekawe, wyciek elektrolitu był większy w pędach, niż korzeniach. W opisywanych badaniach wzrost akumulacji proliny w roślinach lędźwianu odnotowano głównie w korzeniach siewek z pożywki zawierającej wyższe stężenie NaCl (100 mM). W korzeniach siewek Derek, Krab i K12 zaobserwowano dwu-, a nawet trzykrotny wzrost zawartości proliny. W celu sprawdzenia działania systemu antyoksydacyjnego badano aktywność peroksydazy gwajakolowej (POD) oraz katalazy (CAT), a także zawartość związków fenolowych. Istotny wzrost aktywności POD wystąpił, zarówno w warunkach niskiego (50 mM NaCl), jak i umiarkowanego (100 mM NaCl) stresu zasolenia, jedynie w korzeniach mutantu K12 i jego formy rodzicielskiej - odmiany Krab. Odnotowano również, że aktywność tego enzymu była kilkakrotnie większa w korzeniach niż w pędach przy tym samym poziomie stresu. Z kolei, istotny wzrost aktywności CAT w warunkach stresu (szczególnie indukowanego 100 mM NaCl) obserwowano w korzeniach Derek, Krab i D4. Natomiast w pędach tych samych genotypów aktywność katalazy nie zmieniała się w stosunku do kontroli, a w pędach mutantu K12 spadała. Analiza zawartości fenoli wykazała, że ogólna ich zawartość wzrastała istotnie w korzeniach wszystkich badanych genotypów, zarówno na pożywkach zawierających 50 mM jak i 100 mM NaCl. Natomiast, zastosowane stężenia NaCl nie powodowały zmian zawartości tych związków w pędach. Z kolei, stres zasolenia indukowany 50 i 100 mM NaCl, nie wpłynął na zawartość chlorofilu (Chl *a+b*, Chl *a*, Chl *b*) i karotenoidów we wszystkich badanych genotypach lędźwianu.

W trzeciej pracy (**Piowarczyk i in. 2017**) reakcję siewek lędźwianu na stres osmotyczny (generowany przez PEG) oceniano na podstawie parametrów biometrycznych (długości oraz zawartości suchej masy pędów i korzeni), stopnia uszkodzenia błon plazmatycznych, aktywności katalazy i peroksydazy gwajakolowej, zawartości związków fenolowych ogółem i antocyjanów oraz zawartości barwników fotosyntetycznych. W opisywanych w pracy badaniach tylko najwyższe stężenie PEG (11 mM) powodowało u obu odmian ograniczenie wzrostu pędów (o ok. 40%), a korzeni o ok. 30% u odmiany 'Krab' i ok. 70% u odmiany 'Derek' (Ryc. 3). Natomiast zawartość suchej masy zwiększała się w korzeniach i pędach wraz ze wzrostem stresu osmotycznego u obu odmian. U obu odmian lędźwianu siewnego zaobserwowano istotny wzrost aktywności POD w pędach w warunkach imitowanej suszy. Natomiast wzrost aktywności POD w korzeniach związany był ze stężeniem PEG, u odmiany Derek na pożywce z 11 mM, a u odmiany Krab z 5,5 mM. Natomiast, stres osmotyczny, bez względu na poziom, stymulował aktywność CAT w korzeniach odmiany Derek. Podczas gdy w korzeniach odmiany Krab aktywność CAT podnosiła się tylko w warunkach najsilniejszego zastosowanego stężenia PEG. Z kolei, w pędach, tylko najwyższe stężenie PEG indukowało zmiany aktywności CAT, u odmiany Derek obniżając, a u odmiany Krab zwiększając ją. W przypadku zawartości fenoli, w siewkach odmiany Krab wraz ze wzrostem poziomu stresu osmotycznego zwiększała się akumulacja fenoli. Natomiast, u odmiany Derek zawartość fenoli nie zmieniała się istotnie w siewkach poddanych stresowi w porównaniu z kontrolą. Z kolei, w przypadku zawartości antocyjan, jedynie pędy siewek odmiany Krab rosące na

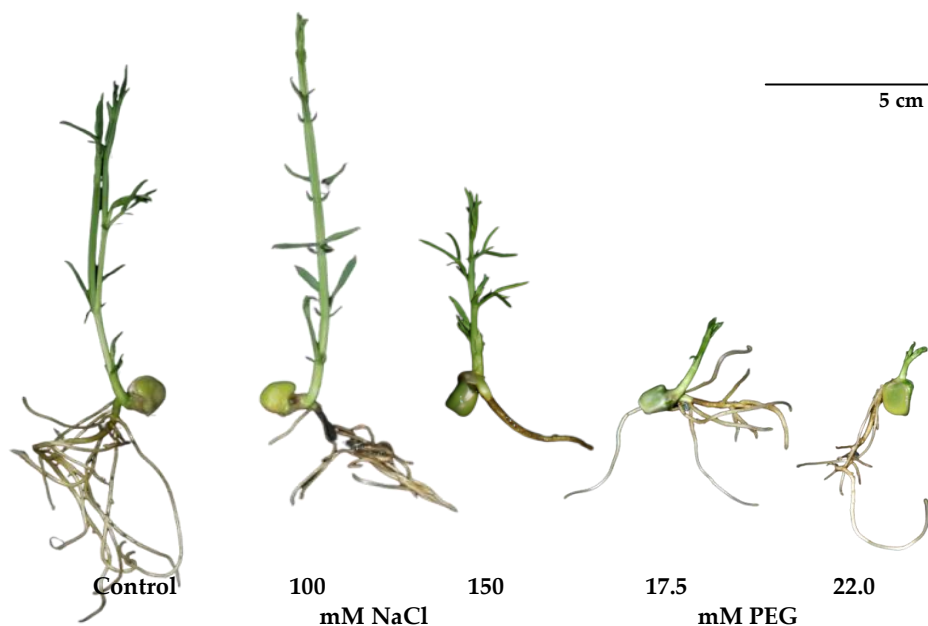
pożywce z najwyższą dawką PEG akumulowały antocyjany w podwyższonym stężeniu. Zawartość proliny zwiększała się w stosunku do kontroli tylko w pędach siewek obu odmian z pożywki zawierającej 11 mM PEG. Stres osmotyczny nie powodował istotnie większego wycieku elektrolitów z komórek pędów i korzeni obu odmian lędźwianu. Stwierdzono natomiast istotne zmniejszenie wycieku jonów w siewkach odmiany Krab rosnących na pożywce o najwyższym stężeniu PEG. Co ciekawe, w siewkach odmiany Krab obserwowano także tendencję wzrostową zawartości chlorofili.



Ryc. 3. Morfologia pędów i korzeni siewek *L. sativus*: Derek i Krab, D4, K12 w zależności od stężenia PEG w pożywce.

W czwartej publikacji (**Tokarz i in. 2020**) aby ocenić różnicę w odpowiedzi siewek lędźwianu siewnego na stres osmotyczny i chemiczny (jonowy) generowany tym samym potencjałem osmotycznym pożywki przeprowadzono analizy procentu kiełkowania nasion oraz pojawiania się pędu, długości oraz świeżej i suchej masy pędów i korzeni, zawartości kationów Na^+ i K^+ , poziomu peroksydacji lipidów (zawartość aldehydu dimalonowego - MDA), zawartości barwników fotosyntetycznych, zawartości cukrów rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych, zawartości kwasu β -N-oxalyl-L- α - β -diaminopropionowego (β -ODAP), zawartości proliny, aktywności enzymów antyoksydacyjnych, zawartości związków fenolowych oraz całkowitej zdolności antyoksydacyjnej (metodą FRAP ang. ferric reducing antioxidant power). W opisywanych w pracy badaniach nie zaobserwowano istotnych różnic w kiełkowaniu nasion lędźwianu siewnego na pożywkach o tym samym potencjale osmotycznym generowanym przez różne stresory (NaCl i PEG). Istotny spadek procentu kiełkowania odnotowano tylko na wyższym zastosowanym stężeniu NaCl (150 mM), do 73,3% i PEG (22 mM), do 80%. Mimo że, procent pojawiania się pędu był niższy (o 10 do ponad 30%), w stosunku do procentu kiełkujących nasion, również dla tego parametru nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy stresem wywołanym przez NaCl i PEG. Z kolei wzrost pędów był silniej hamowany przez warunki stymulujące suszę niż zasolenie. Długość pędów była zredukowana na pożywkach z oboma stężeniami PEG, a także na pożywce z wyższym stężeniem NaCl (150 mM) (Ryc. 4). Z kolei, długość i świeża masa korzeni uległa zmniejszeniu zarówno na pożywce z NaCl, jak i PEG; nie zaobserwowano jednak różnic pomiędzy odpowiednimi stężeniami NaCl i PEG (Ryc. 4). Oba stresory zmniejszyły średnią

suchą masę pędów i korzeni. Jednak ocena zawartości suchej masy w odniesieniu do świeżej masy organów wykazała przeciwny kierunek zmian. Zasolenie, generowane przez NaCl, nie zmieniło procentowej zawartości suchej masy w pędach, ale zwiększyło procentową zawartość suchej masy korzeni. Natomiast stres generowany przez PEG zwiększał procentową zawartość suchej masy zarówno w pędach jak i korzeniach. Ponadto stwierdzono istotnie większą zawartość suchej masy zarówno w pędach jak i korzeniach siewek poddanych stresowi wywołanemu przez PEG w porównaniu do stresu wywołanego przez NaCl.



Ryc. 4. Morfologia pędów i korzeni siewek *L. sativus* odm. Krab w zależności od stężenia NaCl i PEG w pożywce.

W 14-dniowych siewkach lędźwianu siewnego traktowanych NaCl, zawartość jonów K^+ nie zmieniała się w pędach, natomiast zmniejszała się istotnie w korzeniach. Z kolei akumulacja jonów sodu zwiększała się stopniowo wraz ze wzrostem stężenia NaCl w pożywce, zarówno w pędach, jak i korzeniach. W ten sam sposób zmieniał się stosunek Na^+/K^+ . W opisywanych badaniach zawartość MDA pozostawała dość stabilna w obu organach (pędy i korzenie) i w obu stresach (zasolenie i susza). W pędach lędźwianu siewnego zawartość barwników fotosyntetycznych zmniejszała się zarówno w warunkach stresu wywołanego NaCl, jak i PEG. Niemniej jednak, istotnie większy spadek barwników obserwowano w warunkach suszy niż zasolenia. W przypadku zawartości cukrów obserwowano istotny wzrost zawartości cukrów rozpuszczalnych w pędach lędźwianu siewnego rosnącego w warunkach stresu indukowanego PEG oraz na pożywkach z wyższą zawartością NaCl. Natomiast, w korzeniach akumulacja cukrów rozpuszczalnych wzrastała tylko przy wyższym stężeniu PEG, a malała przy niższym stężeniu NaCl. Z kolei akumulacja nierozpuszczalnych cukrów w pędach nasilała się w obu stresach i była większa w pędach poddanych stresowi PEG niż NaCl. Natomiast, w korzeniach zwiększona akumulacja nierozpuszczalnych cukrów wystąpiła tylko w przypadku wyższego stężenia NaCl. Stosunek cukrów rozpuszczalnych do nierozpuszczalnych zmniejszał się w pędach w obu warunkach stresowych, natomiast w korzeniach wzrastał przy wyższym stężeniu PEG, a zmniejszał się przy niższym stężeniu

NaCl. Ponadto stosunek ten był wyższy w warunkach symulujących suszę niż w obecności NaCl. W przypadku zawartości neurotoksyny ODAP, odnotowano istotny wzrost akumulacji tego związku zarówno w pędach, jak i korzeniach pod wpływem stresu PEG. Ponadto, poziom akumulacji ODAP w tych warunkach był istotnie wyższy niż w odpowiadających im warunkach zasolenia, z wyjątkiem wyższego stężenia NaCl, które powodowało istotny wzrost ODAP w korzeniach. Z kolei akumulacja proliny zwiększała się w pędach jak i korzeniach siewek lędźwianu siewnego zarówno w warunkach imitujących suszę jak i zasolenie. Jednakże wzrost zawartości proliny był istotnie wyższy w siewkach eksponowanych na stres indukowany przez PEG niż przez NaCl. Ponadto, w opisywanych badaniach aktywność POD wzrosła zarówno w pędach, jak i korzeniach w warunkach stresowych. Wzrost ten był większy w pędach wystawionych na stres indukowany PEG, a w korzeniach na stres indukowany NaCl. Z kolei, pędy lędźwianu siewnego wykazywały intensywną aktywność katalazy tylko przy wyższym stężeniu PEG, a korzenie na pożywkach z wyższymi stężeniami NaCl i PEG. W przypadku związków fenolowych, odnotowano wzrost ich zawartości w korzeniach roślin eksponowanych na NaCl, zwłaszcza w niższym stężeniu, w porównaniu do kontroli ale także do stresu indukowanego przez PEG. W pędach obserwowano podobny wzrost zawartości związków fenolowych w stosunku do kontroli, zarówno w warunkach imitujących suszę jak i zasolenie. Co ciekawe, analiza całkowitej zdolności antyoksydacyjnej siewek wykazała jej wzrost jedynie w korzeniach, zwłaszcza w warunkach stresu indukowanego przez NaCl.

Omówienie wyników

Pierwszym etapem cyklu życiowego roślin, najbardziej wrażliwym na pojawiający się stres, głównie abiotyczny, jest kiełkowanie. Kiełkowanie jest bardzo złożonym procesem, podczas którego nasiona muszą szybko przejść ze stanu uśpienia do przyspieszonej aktywności metabolicznej, aby umożliwić pojawienie się korzonka zarodkowego [Nonogaki i in. 2010]. Proces ten rozpoczyna się imbibicją, czyli szybkim pobieraniem wody, aż do momentu całkowitego uwodnienia wszystkich składników komórki i reaktywacją metabolizmu, umożliwiając dalsze etapy kiełkowania [Rajjou i in. 2012]. Dlatego warunki środowiskowe ograniczające dostępność wody, takie jak susza, zasolenie czy mroźne temperatury, negatywnie wpływają na ten kluczowy dla roślin proces [Verslues i in. 2006]. W przypadku lędźwianu siewnego procent kiełkujących nasion spadał w warunkach stresu zasolenia przekraczającego poziom 150 mM NaCl **(Piwowarczyk i in. 2016, Tokarz i in. 2020)** oraz w warunkach stresu osmotycznego generowanego przez PEG w stężeniu 22 mM **(Tokarz i in. 2020)** do poziomu między 73 a 92%. Negatywny wpływ suszy i zasolenia na kiełkowanie wynika przede wszystkim z niskiego potencjału osmotycznego roztworu glebowego, a w przypadku zasolenia także z toksycznego działania jonów Na^+ i Cl^- [Tester i Davenport 2003]. Desykacja nasion po wejściu w stan spoczynku, a następnie zmiany związane z rehydracją nasion podczas imbibicji, generują wolne rodniki i uszkodzają składniki komórkowe. Po fazie rehydratacji nasiona syntetyzują enzymy związane z naprawą i redukcją uszkodzeń komórkowych [Nonogaki i in. 2010]. Trudności w pobieraniu wody, wynikające z osmotycznego oddziaływania, mogą prowadzić do niedostatecznego uwodnienia białek i obniżenia aktywności enzymów [Mer i in. 2000], na które jony sodu mogą wywierać dodatkowy negatywny wpływ [Nonogaki i in. 2010]. Niektórzy autorzy sugerują, że zdolność kiełkowania nasion w warunkach stresu może odzwierciedlać późniejszy wzrost siewek, a

następnie plon roślin [Petrović i in. 2016], stąd poza kiełkowaniem – rozumianych jako pojawienie się korzonka zarodkowego, opisuje się często etap pojawienia się pędu (ang. seedling emergence). Ponadto obserwuje się, że zarówno zasolenie, jak i susza mają bardziej negatywny wpływ na wzrost hipokotyla niż korzenia zarodkowego [Mokhberdoran i in. 2009], gdyż etap wzrostu pędu po kiełkowaniu rozpoczyna się intensywnymi podziałami komórkowymi, które są bardzo wrażliwe na deficyt wody [Nonogaki i in. 2010]. Dodatkowo niedostateczne uwodnienie tkanek może hamować mobilizację związków zapasowych liścieni do rosnącego pędu, co ogranicza jego rozwój [MurilloAmador i in. 2002]. W wielu badaniach prowadzonych na roślinach strączkowych obserwowano znacznie większą wrażliwość roślin na stres na etapie pojawiania się pędu niż pojawiania się korzonka [Al-Mutawa 2003; Dash i Panda 2001; Esechie i in. 2002; Kaya i in. 2008; Murillo-Amador i in. 2002; Okcu i in. 2005]. Także w przypadku lędźwianu siewnego odnotowano znacznie większy spadek procentu pojawiania się pędu, zarówno w warunkach imitujących zasolenie (w zależności od genotypu i poziomu stresu do 28-63%) **(Piwowarczyk i in. 2016, Tokarz i in. 2020)** jak i w warunkach imitujących suszę (do 47-68% w zależności od poziomu stresu) **(Tokarz i in. 2020)**. Co ciekawe bezpośrednio porównanie oddziaływania stresu zasolenia (a więc połączonego stresu chemicznego i osmotycznego) i stresu suszy (stresu osmotycznego) wykazało w przypadku lędźwianu siewnego brak różnic w procencie kiełkowania nasion i pojawiania się pędu **(Tokarz i in. 2020)**. Może to sugerować, że obserwowana reakcja roślin jest reakcją na stres osmotyczny, a nie chemiczny. Mimo tego, że dzielące się komórki powinny być bardziej wrażliwe na niekorzystne proporcje jonów (stres zasolenia), ze względu na brak dobrze rozwiniętej wakuoli, do której mogłyby być odprowadzane szkodliwe jony [Alam i in. 2002].

Kolejnym z bardziej widocznych objawów stresu związanego z niedoborem wody jest osłabienie wzrostu. Wynika to przede wszystkim ze spadku trugoru, prowadzącego do zahamowania wydłużania się komórek, a także z utrudnionej absorpcji wody i składników pokarmowych z powodu obniżenia potencjału wodnego pożywki [Manchanda i Garg 2008; Jaleel i in. 2009]. Wzrost ograniczany jest również w wyniku zaburzeń w procesie fotosyntezy a tym samym produkcji węglowodanów [Farooq i in. 2009]. Co więcej rośliny, wykorzystując dostępny węgiel do syntezy osmotolitów, dodatkowo zmniejszają swoją biomasę [Queirós i in. 2007]. Jednakowoż, wolniejsze tempo wzrostu jest cechą adaptacyjną roślin pozwalającą przetrwać stres, a zwiększona tolerancja na niedobór wody często okazuje się być odwrotnie proporcjonalna do tempa wzrostu [Queirós i in. 2007]. Istnieje szereg doniesień wskazujących, że susza i zasolenie ograniczała wzrost roślin strączkowych [Okcu i in. 2005; Zeid i Shedeed 2006; Jiang i in. 2013]. W opisywanych badaniach, zastosowane warunki stresowe, zarówno susza jak i zasolenie, ograniczały wzrost i rozwój różnych genotypów (odmian, mutantów i linii) rodzaju *Lathyrus* **(Piwowarczyk i in. 2014, Piwowarczyk i in. 2016, Piwowarczyk i in. 2017, Tokarz i in. 2020)**. Pierwsze badania przesiewowe genotypów z rodzaju *Lathyrus* wykazały, że po 4 tygodniach kultury na pożywkach z dodatkiem PEG następowało obniżenie tempa namnażania pędów oraz spadek ich wigoru. Co ciekawe nie obserwowano wyraźnych różnic w tych parametrach między badanymi genotypami **(Piwowarczyk i in. 2014)**. Kolejne badania, prowadzone na 14 dniowych siewkach, wykazały zahamowanie wzrostu pędów i korzeni, odmian i mutantów lędźwianu siewnego, zarówno w warunkach stresu generowanego przez NaCl, powyżej stężenia 100 mM, jak i stresu generowanego przez PEG, powyżej stężenia 11mM

(Piwowarczyk i in. 2016, Piwowarczyk i in. 2017, Tokarz i in. 2020). Bezpośrednie porównanie odpowiedzi lędźwianu siewnego na stres chemiczny i osmotyczny, generowany przez ten sam potencjał osmotyczny pożywki **(Tokarz i in. 2020)**, potwierdziło obserwacje innych autorów, którzy donosili o silniejszym hamowaniu wzrostu organów pod wpływem stresu imitującego suszę niż zasolenie [Petrović i in. 2016, Okcu i in. 2005; Shitole i in. 2012; Kaydan i Yagmur 2008]. Według Munns [2002] szkodliwe skutki stresu zasolenia obejmują przede wszystkim stres osmotyczny, a stres chemiczny dopiero po kilku dniach, wynikający z akumulacji szkodliwych jonów. Jednym z najważniejszych przystosowań roślin do niedoboru wody jest regulacja osmotyczna [Blum 2017; Turner 2018; Zivcak i in. 2016; Munns i in. 2020]. Regulacja osmotyczna, polegająca na gromadzeniu organicznych i nieorganicznych związków rozpuszczalnych w wodzie, ma do spełnienia dwie główne role: osmoregulację i osmoprotekcję [Blum 2017; Zivcak i in. 2016]. Osmoregulacja polega na gromadzeniu związków osmotycznie czynnych w celu obniżenia potencjału osmotycznego i utrzymania turgoru komórkowego niezbędnego do prawidłowego przebiegu wielu procesów fizjologicznych [Zivcak i in. 2016]. Ponadto, w stresie zasolenia proces ten może być związany albo z całkowitym wyłączeniem toksycznych jonów sodu i chloru, albo ich akumulacją, ale tylko do poziomu nietoksycznego dla komórek [Munns i in. 2020]. Opisywane w czwartej publikacji **(Tokarz i in. 2020)** wyniki wskazują, że stres zasolenia jest mniej szkodliwy dla wzrostu siewek lędźwianu siewnego niż stres suszy. Jednym z możliwych wyjaśnień jest obniżenie potencjału osmotycznego korzeni, spowodowane akumulacją jonów Na^+ , co pozwala roślinom na bardziej efektywne pobieranie wody i kontynuowanie niezahamowanego wzrostu [Alam i in. 2002]. Wysoka zawartość jonów Na^+ , zarówno w korzeniach, jak i pędach badanych siewek lędźwianu siewnego, wskazywała na to, że parametr ten sterował efektywnym wzrostem siewek w warunkach zasolenia. Takiego efektu nie zaobserwowano w przypadku PEG 6000, ponieważ jego duża masa cząsteczkowa nie pozwala na jego transport przez pory ściany komórkowej i do protoplastu [Verslues i in. 2006]. W efekcie woda jest pobierana nie tylko z protoplastu, ale również ze ściany komórkowej powodując cytoryzę (kurczenie się całej komórki wraz ze ścianą komórkową), a nie plazmolizę, co obserwuje się w przypadku suszy w warunkach naturalnych [Verslues i in. 2006].

Rośliny uprawne reagują na stres zasolenia lub suszy zmianami zawartości suchej masy [Okcu i in. 2005, Munns 2005, Eziz i in. 2017], która jest uważana za jeden z kluczowych wskaźników w ocenie tolerancji roślin na stres abiotyczny [Munns 2005]. Produkcja suchej masy u roślin jest wynikiem złożonego procesu fizjologicznego, którego głównym substratem są węglowodany. Ich synteza zachodzi przede wszystkim podczas fotosyntezy, ale także w cyklach alternatywnych, takich jak glukoneogeneza [Hossain i in. 2009, Farooq i in. 2009]. Zaburzenia fotosyntezy wynikające ze stresu osmotycznego i chemicznego znacznie upośledzają produkcję asymilatów i ich dystrybucję w roślinie. Często głównymi organami wykorzystującymi cukry z produkcji pierwotnej i wtórnej są korzenie, w których wytwarzane są związki osmotycznie czynne zmieniające potencjał wodny komórek w celu utrzymania pobierania wody ze środowiska [Eziz i in. 2017, Farooq i in. 2009]. Stąd wzrost zawartości suchej masy jest często traktowany jako cecha typowa dla roślin tolerancyjnych na stres osmotyczny i chemiczny [Jaleel i in. 2009]. Zaburzenia metabolizmu węglowodanów w warunkach stresu mogą prowadzić do ujemnego bilansu węgla, o ile

jednocześnie nie nastąpi ograniczenie wzrostu [Farooq i in. 2009]. W przypadku lędźwianu siewnego obserwowano wzrost zawartości suchej masy w pędach i korzeniach w warunkach imitujących suszę generowanych przez PEG w stężeniu równym i większym 5,5 mM (**Piwowarczyk i in. 2014, Piwowarczyk i in. 2017, Tokarz i in. 2020**). W przypadku stresu zasolenia, zawartość suchej masy wzrastała jedynie w korzeniach polskich odmian lędźwianu, na pożywkach zawierających 100 i 150 mM NaCl (**Piwowarczyk i in. 2016, Tokarz i in. 2020**). Także bezpośrednie porównanie stresu zasolenia i suszy (**Tokarz i in. 2020**) wykazało znaczny wzrost zawartości suchej masy w siewkach z pożywek z PEG w stosunku do siewek z pożywek z odpowiadającymi stężeniami NaCl. Jednocześnie, siewki te wykazywały silniejsze zahamowanie wzrostu pędów i korzeni w stosunku do kontroli, a także wzrostu pędów w stosunku do odpowiednich stężeń NaCl. Mniejszy wzrost zawartości suchej masy w siewkach rosnących w warunkach zasolenia potwierdza pośrednio rolę jonów Na^+ jako osmoregulatorów. Ponadto, do syntezy 1 mola osmolitu roślina potrzebuje znacznie więcej cząsteczek ATP niż do zgromadzenia 1 mola NaCl, a synteza ATP odbywa się kosztem wzrostu rośliny [Munns 2011, Munns i in. 2020].

Inną cechą świadczącą o podwyższonej tolerancji na stres jest zdolność komórek do utrzymania integralności błon plazmatycznych [Talukdar 2011]. W badaniach nad odpowiedzią roślin na różne warunki stresowe w celu oceny integralności błon plazmatycznych stosuje się najczęściej dwie metody: analizę wycieku jonów/elektrolitów [Jambunathan 2010] oraz ocenę stopnia peroksydacji lipidów [Nxele i in. 2017]. Nienasycone lipidy błonowe komórek roślinnych są atakowane przez reaktywne formy tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS) generowane podczas stresu i prowadzące do utleniania lipidów (peroksydacji) [Davey i in. 2005]. Peroksydacja powoduje rozpad nienasyconych lipidów skutkujący m.in. powstaniem aldehydu malonylowego (MDA) [Davey i in. 2005]. Zwiększone nagromadzenie MDA świadczy o intensywnej peroksydacji lipidów i jest często interpretowane jako objaw upośledzonej aktywności układu antyoksydacyjnego [Sahin i in. 2018]. Dodatkowo, w przypadku stresu zasolenia zmiany w przepuszczalności błon komórkowych będą związane z równowagą jonową komórki. Pewne stężenia jonów K^+ i Ca^{2+} są wymagane do utrzymania błon w stanie nienaruszonym. Przy wysokich stężeniach jony Na^+ mogą zastępować jony Ca^{2+} występujące w błonie powodując zmianę jej przepuszczalności i wyciek jonów K^+ [Ashraf 2004; Ashraf i Ali 2008]. W siewkach lędźwianu siewnego odnotowano zwiększony wyciek elektrolitów w pędach i korzeniach w warunkach stresu zasolenia (**Piwowarczyk i in. 2016**) zarówno u badanych odmian (Derek i Krab) jak i ich mutantów (D4 i K12). Talukdar [2013] zaobserwował, że u linii lędźwianu siewnego, tolerancyjnych na zasolenie, wyciek elektrolitu zwiększał się we wczesnych fazach wzrostu (rośliny 35-dniowe), a później (rośliny 50- i 80-dniowe) pozostawał na poziomie roślin z warunków kontrolnych. Można więc przyjąć, że badane rośliny (14 dniowe) w momencie pomiaru mogły znajdować się w okresie przystosowania do stresu zasolenia. Natomiast, w przypadku stresu osmotycznego generowanego przez 5.5 oraz 11 mM PEG, siewki (zarówno pędy jak i korzenie) polskich odmian lędźwianu siewnego nie wykazywały zwiększonego wycieku elektrolitów (**Piwowarczyk i in. 2017**). Co ciekawe, w siewkach odmiany Krab obserwowano spadek wycieku elektrolitów co może świadczyć o zdolności do szybkiej odbudowy błon plazmatycznych w celu zwiększenia ich integralności i może być jednym z kluczowych procesów aklimatyzacji do pojawiającego się stresu (**Piwowarczyk i**

in. 2017). Z kolei, analiza zawartości MDA, w badaniach porównujących bezpośrednio stres suszy i zasolenia (**Tokarz i in. 2020**), wykazała, że stężenie MDA pozostawało dość stabilne w obu organach (pędy i korzenie) i w obu stresach (zasolenie i susza). Wskazywało to albo na efektywne zmiatanie wolnych rodników przez system antyoksydacyjny, albo na zapobieganie ich produkcji.

Przetrwanie roślin rosnących w warunkach deficytu wody zależy od mechanizmu regulacji osmotycznej. Do związków osmotycznie czynnych należą cukry (głównie sacharoza i fruktoza), alkohole cukrowe (glicerol, mannitol, sorbitol), aminokwasy (glicyna, prolina) i inne [Hasegawa i in. 2000]. Rola proliny i mechanizm jej działania nie są jasne. Przez lata prolina była traktowana jako substancja osmotycznie aktywna, odpowiedzialna za szybkie i efektywne obniżenie potencjału wodnego komórki [Verbruggen i Hermans 2008]. Wiele badań wskazuje jednak na jej marginalną rolę w regulacji osmotycznej komórki [Aleksza i in. 2017, Bertazzini i in. 2018]. Wydaje się, że w warunkach stresowych mechanizm działania proliny związany jest głównie z ochroną enzymów i błon komórkowych. Dzięki swoim właściwościom kosmotropowym prolina chroni kluczowe enzymy przed zmianami konformacyjnymi wywołanymi odwodnieniem w warunkach stresu osmotycznego i/lub solnego. Dodatkowo, pośrednio zmniejsza skutki stresu oksydacyjnego poprzez ochronę enzymów antyoksydacyjnych przed denaturacją [Forlani i in. 2019]. W lędźwianie siewnym obserwowano wzrost zawartości proliny w pędach i korzeniach różnych genotypów, w stresie imitującym suszę, zwłaszcza generowaną przez wyższe stężenia PEG (powyżej 11 mM) (**Piwowarczyk i in. 2014, Piwowarczyk i in. 2017, Tokarz i in. 2020**). Z kolei zasolenie powodowało zwiększoną akumulację proliny głównie w korzeniach badanych obiektów (**Piwowarczyk i in. 2016, Tokarz i in. 2020**). Większa akumulacja proliny w pędach i korzeniach siewek lędźwianu siewnego w warunkach stresu indukowanego PEG wskazuje na jej większe znaczenie w aklimatyzacji lędźwianu siewnego do stresu osmotycznego niż chemicznego.

W warunkach stresowych do regulacji osmotycznej wykorzystywane są i gromadzone m.in. węglowodany [Blum 2017, Turner 2018]. W publikacji **Tokarz i in. (2020)** analizowano akumulację cukrów rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych, obserwując wzrost zawartości cukrów rozpuszczalnych w pędach lędźwianu rosnącego w warunkach stresu indukowanego przez PEG oraz przez wyższe stężenie NaCl. Z kolei, tempo wzrostu pędów i niższa zawartość cukrów rozpuszczalnych w pędach w przypadku niższego poziomu zasolenia sugeruje, że w regulacji osmotycznej u tych roślin uczestniczyły inne związki lub jony. Wzrost zawartości cukrów rozpuszczalnych w korzeniach był nieco wyższy na pożywce z PEG niż NaCl. Z kolei, istotny wzrost zawartości cukrów nierozpuszczalnych i brak zmian w stosunku cukrów rozpuszczalnych do nierozpuszczalnych zaobserwowano w korzeniach na pożywce z wyższym stężeniem NaCl, co może wskazywać na efektywną regulację osmotyczną przez Na^+ (**Tokarz i in. 2020**). Ponadto, wzrost zawartości cukrów nierozpuszczalnych wskazywał na wzrost zawartości innych polisacharydów, np. budujących ścianę komórkową, które mogą działać jako zmiatacze wolnych rodników [Byrt i in. 2018] lub regulować wzrost komórek [An i in. 2014]. Regulacja osmotyczna pełni również rolę ochronną (osmoprotekcyjną) poprzez gromadzenie związków stabilizujących białka, zwłaszcza enzymy, lub uczestniczących w zmiataniu nowo powstałych wolnych rodników, chroniąc w ten sposób integralność błony plazmatycznej [Wani i in. 2013, Couée i in. 2006].

Cukry proste, wraz z hormonami roślinnymi, tworzą w roślinach sieć sygnałową uczestniczącą nie tylko w cyklu komórkowym i podziałach komórkowych, ale także umożliwiającą odpowiedź roślin na pojawiające się stresy. Ponadto uważa się, że cukry odgrywają ważną rolę w zmiataniu rodników hydroksylowych (OH) poprzez reakcję Fentona w obecności jonów Fe^{2+} [Matros i in. 2015]. Niezależnie od wybranej strategii, w korzeniach lędźwianu obserwowano skuteczną ochronę przed negatywnymi skutkami zarówno stresu jonowego, jak i osmotycznego (**Tokarz i in. 2020**).

Niektóre badania sugerują, że zmiany zawartości neurotoksyny ODAP, pod wpływem stresów środowiskowych, wskazują, że może ona odgrywać istotną rolę w odpowiedzi roślin na stres abiotyczny [Haque i in. 2011, Jiao i in. 2011, Xiong i in. 2006, Zhang i in. 2005, Xiong i in. 2016]. Stres suszy, najczęściej indukowany przez PEG, zwiększał zawartość ODAP w różnych organach i tkankach [Haque i in. 2011, Xiong i in. 2006]. W stresie zasolenia obserwowano większą zmienność w zawartości ODAP. Zawartość ODAP zmniejszała się przy niższych stężeniach NaCl (poniżej 0,4%), ale wzrastała przy wyższych (powyżej 0,4%) [Haque i in. 2006]. W opisywanych w publikacji **Tokarz i in. (2020)** badaniach również obserwowano większą akumulację ODAP zarówno w pędach, jak i korzeniach siewek lędźwianu siewnego pod wpływem stresu indukowanego PEG. Ponadto, stres zasolenia nie zmniejszał zawartości ODAP ani w pędach, ani w korzeniach, a także nie zmieniał jej lub zwiększał w korzeniach pod wpływem wyższego stężenia NaCl. Uważa się, że ODAP, jako rozpuszczalny aminokwas niebiałkowy, może działać jako osmoregulator [Byrt i in. 2018, Zhang i in. 2005], a nawet jako zmiatacz wolnych rodników hydroksylowych (OH) [Zhou i in. 2001].

Wrażliwość roślin na warunki stresowe bardzo często oceniana jest także poprzez analizę zawartości barwników fotosyntetycznych, pozwalającą na wstępną ocenę stanu aparatu fotosyntetycznego [Munns 2011]. Spadek zawartości barwników fotosyntetycznych w warunkach niedoboru wody, zarówno w wyniku suszy, jak i zasolenia, wynika przede wszystkim z zaburzeń w ich syntezie [Dalal i Tripathy 2012, Phung i in. 2011]. W syntezie barwników roślinnych bierze udział szereg enzymów [Beale 1999]. Badania wskazują, że zarówno susza jak i zasolenie zmniejszają zawartość kwasu 5-aminolewulinowego (ALA), prekursora porfiryń, a w konsekwencji chlorofili, poprzez zakłócenie działania dehydrogenazy ALA [Dalal i Tripathy 2012, Phung i in. 2011]. Zaburzenia syntezy barwników mogą być również wynikiem upośledzonej aktywności enzymów w wyniku zaburzeń homeostazy jonowej komórek, wpływających na dostępność kofaktorów enzymatycznych [Hanikenne i in. 2014]. W przypadku lędźwianu siewnego odnotowano spadek zawartości barwników fotosyntetycznych, zarówno chlorofili jak i karotenoidów, w warunkach stresu generowanego przez wyższe stężenia PEG (**Piowarczyk i in. 2014, Tokarz i in. 2020**) oraz przez najwyższe zastosowane stężenie NaCl (150 mM) (**Tokarz i in. 2020**). Natomiast niższe zastosowane poziomy stresu nie wpływały negatywnie na zawartość jak i stosunek barwników (**Piowarczyk i in. 2016, Piowarczyk i in. 2017**). W warunkach stresu wywołanego przez NaCl komórki są najprawdopodobniej zdolne do pobierania wody przez dłuższy czas, ze względu na lepszą regulację osmotyczną wynikającą z akumulacji jonów (Na^+) [Munns i in. 2020]. W ten sposób mogą chronić enzymy zaangażowane w biosyntezę barwników przed odwodnieniem i/lub zapewnić homeostazę jonową.

W warunkach stresowych, w komórkach roślinnych dochodzi do niekontrolowanego generowania ROS (m.in. H_2O_2 , $-O_2$). W celu ochrony przed ROS rośliny uruchamiają system antyoksydacyjny, w tym intensyfikują działanie enzymów antyoksydacyjnych takich jak: katalaza (CAT) czy peroksydaza (POD) [Farooq i in. 2009, Noctor i in. 2014]. Poza enzymami, rośliny bronią się przed nadmiarem ROS akumulując antyoksydanty drobnocząsteczkowe, w tym związki fenolowe [Weidner i in. 2009]. Katalaza jest enzymem, który bardzo efektywnie zmiata cząsteczki nadtlenu wodoru, a jego wysoką aktywność zaobserwowano w liściach wielu gatunków roślin jako odpowiedź na stres osmotyczny [Noctor i in. 2014]. W siewkach lędźwianu siewnego aktywność katalazy zwiększała się głównie w korzeniach w stresie suszy i zasolenia **(Piwowarczyk i in. 2016, Piwowarczyk i in. 2017, Tokarz i in. 2020)** oraz w pędach w stresie suszy generowanym przez wysokie stężenie PEG **(Piwowarczyk i in. 2017, Tokarz i in. 2020)**. Peroksydazy (askorbinianowa, glutationowa, gwajakolowa) należą do najbardziej rozpowszechnionych enzymatycznych antyoksydantów [Bonifacio i in. 2011]. Stosowana w opisywanych badaniach metoda oznaczania aktywności enzymu z wykorzystaniem p-fenylenodiaminy jako substratu jest przydatna do oznaczania aktywności peroksydazy gwajakolowej (POD) [van Doorn i Ketsa 2014]. Peroksydaza gwajakolowa, zwana również peroksydazą fenolową, bierze udział w zmiataniu H_2O_2 , ale także w biosyntezie ligniny, a tym samym we wzroście i rozwoju komórek [Bonifacio i in. 2011]. Różne izoformy POD występują w cytozolu, wakuolach, a przede wszystkim w ścianie komórkowej. Uważa się, że te ostatnie biorą udział w odpowiedzi obronnej roślin na różne stresy [van Doorn i Ketsa 2014]. W siewkach lędźwianu siewnego aktywność POD istotnie zwiększała się w przypadku stresu zasolenia głównie w korzeniach **(Piwowarczyk i in. 2016, Tokarz i in. 2020)**, a w stresie suszy głównie w pędach **(Piwowarczyk i in. 2017, Tokarz i in. 2020)**. Zwiększona aktywność POD w pędach najprawdopodobniej wynika z silniejszego stresu, o czym świadczyło także silniejsze ograniczenie ich wzrostu **(Tokarz i in. 2020)**. Natomiast zwiększona aktywność POD w korzeniach może wynikać z nasilenia biosyntezy ligniny w ścianach komórkowych, która może trwale wiązać jony Na^+ [Byrt i in. 2018]. Z kolei, wspomniane wcześniej drobnocząsteczkowe antyoksydanty - związki fenolowe - należą do bardzo szerokiej rodziny metabolitów wtórnych syntetyzowanych w szlaku kwasu shikimowego [Makowski i in. 2020]. Zaobserwowano wzrost tolerancji na suszę i zasolenie wraz ze wzrostem zawartości związków fenolowych zarówno u roślin dzikich, jak i uprawnych [Nichols i in. 2015, Nakabayashi i in. 2014]. Właściwości antyoksydacyjne związków fenolowych wynikają z ich struktury, która czyni je doskonałymi reduktorami, a także z możliwości chelatowania jonów metali, co zapobiega niekontrolowanym reakcjom redoks [Naikoo i in. 2019]. Co więcej, związki fenolowe mogą również reagować z wolnymi rodnikami, stając się rodnikami fenoksyłowymi, które dzięki swojej stabilnej strukturze zatrzymują propagację rodnika i kończą rodnikową reakcję łańcuchową [Naikoo i in. 2019]. Ponadto, fenole uczestniczą również w syntezie składników budujących wtórną ścianę komórkową, zwiększając jej grubość i jednocześnie odporność na stres [Ahanger i in. 2017]. W przypadku zawartości fenoli, w siewkach lędźwianu odnotowano wzrost ich akumulacji w korzeniach głównie w stresie generowanym przez NaCl **(Piwowarczyk i in. 2016, Tokarz i in. 2020)**, a w pędach przede wszystkim w warunkach stresowych generowanych przez PEG **(Piwowarczyk i in. 2017, Tokarz i in. 2020)**. Wzrost zawartości związków fenolowych, jaki obserwowaliśmy w

korzeniach roślin eksponowanych na NaCl, zwłaszcza w niższym stężeniu, oraz w porównaniu ze stresem indukowanym PEG, wskazywał, że związki te odgrywają ważną rolę w mechanizmie odporności korzeni na stres zasolenia. Najprawdopodobniej uczestniczyły one w chelatowaniu jonów Na^+ głównie w ścianie komórkowej (Tokarz i in. 2020). Z kolei, podobny wzrost zawartości fenoli w roślinach traktowanych oboma stresorami, w porównaniu z kontrolą, wskazywał, że związki fenolowe w pędach pełnią rolę osmoprotektantów podczas stresu zasolenia i suszy. Stąd, w przypadku siewek rosnących w stresie indukowanym NaCl, zwiększona aktywność CAT, wraz ze zwiększoną akumulacją związków fenolowych i aktywnością POD, może wskazywać na postępujący proces lignifikacji korzeni.

Podsumowanie

W pierwszej publikacji (Piwowarczyk i in. 2014) uzyskano wstępne wyniki dotyczące tolerancji wybranych obiektów rodzaju *Lathyrus* na suszę generowaną przez PEG. Wykazano, że reakcje na stres najprawdopodobniej związane są ze wzrostem suchej masy i zawartością proliny. Mimo, że wyniki nie wskazały jednoznacznie, który z obiektów *Lathyrus* jest najbardziej odporny na stres osmotyczny, wskazały jednak na polskie odmiany i mutanty lędźwianu siewnego, jako ciekawe obiekty do dalszych badań.

W drugiej publikacji (Piwowarczyk i in. 2016) wstępnie wykazano, że mechanizm tolerancji na zasolenie u roślin lędźwianu wynikał z podwyższonej aktywności systemu antyoksydacyjnego w komórkach korzenia, objawiającej się zwiększoną akumulacją związków fenolowych i aktywnością peroksydazy. Brak zmian w aparacie fotosyntetycznym (niezmieniająca się zawartość barwników fotosyntetycznych) również może potwierdzać powyższe przypuszczenia. Wyniki tej pracy wykazały, że ciekawymi obiektami do dalszych badań były polskie odmiany lędźwianu siewnego.

W trzeciej publikacji (Piwowarczyk i in. 2017) wyniki wskazały, że badane rośliny, dwie polskie odmiany lędźwianu siewnego, choć należą do tego samego gatunku, różnią się procesami aklimatyzacyjnymi prowadzącymi do podwyższonej tolerancji na stres osmotyczny. W komórkach odmiany Krab, w odpowiedzi na występujący stres uruchamiane były nie tylko enzymatyczne antyoksydanty i osmoprotektanty, jak w przypadku odmiany Derek, ale również antyoksydanty nieenzymatyczne w postaci fenoli, w tym antocyjanów. Ponadto lepsze parametry biometryczne korzeni siewek 'Krab' przy najsilniejszym stresie sugerowały, że kluczową rolę w tolerancji na stres osmotyczny mogą odgrywać zdolności do szybkiej odbudowy błon plazmatycznych.

W czwartej publikacji (Tokarz i in. 2020), doświadczenia z NaCl i PEG w stężeniach generujących ten sam potencjał osmotyczny pożywki wykazały różnice w mechanizmach odpowiedzi lędźwianu na stres zasolenia i suszy. Lędźwian siewny odmiany Krab charakteryzował się większą tolerancją na zasolenie (indukowane przez NaCl) niż na suszę (indukowaną przez PEG). Mechanizm odpowiedzi lędźwianu na stres zasolenia wydaje się być związany przede wszystkim z efektywną dystrybucją jonów Na^+ , które mogą być wykorzystane jako związki osmotycznie czynne, zapewniające odpowiednie uwodnienie komórek i zmniejszające potrzebę nadmiernej produkcji osmoprotektantów (mniejsza akumulacja proliny), a tym samym nie ograniczające wzrostu i rozwoju siewek. Ponadto rosnąca akumulacja fenoli i nierozpuszczalnych cukrów, a także brak silnych objawów stresu (niska akumulacja MDA), może świadczyć o sekwestracji nadmiaru jonów Na^+ w ścianach komórkowych. Natomiast aklimatyzacja lędźwianu siewnego do suszy zależy głównie od

mechanizmu regulacji osmotycznej, z wykorzystaniem cukrów rozpuszczalnych jako osmoregulatorów oraz proliny, a także prawdopodobnie ODAP jako osmoprotektantów, kosztem wzrostu i rozwoju roślin. Uważa się, że w początkowych stadiach stres zasolenia jest również stresem osmotycznym, a reakcje roślin w obu przypadkach przebiegają według tych samych mechanizmów. Nasze wyniki wskazują jednak, że lędźwian siewny wykazuje wyraźnie zróżnicowaną odpowiedź na stres zasolenia i suszy od samego początku swojej wegetacji.

Literatura

- Ahanger i in.** Physiol. Mol. Biol. Plants 2017, 23:731–744. **Alam i in.** Pak. J. Biol. Sci. 2002, 5:1207–1210. **Aleksza i in.** Plant Physiol. 2017, 175, 555–567. **Al-Mutawa.** Int J Agric Biol 2003, 3:226–229. **An i in.** J. Agron. Crop Sci. 2014, 200:212–218. **Ashraf** Flora 2004, 199:361–376. **Ashraf, Ali.** Environ Exp Bot 2008, 63:266–273. **Barpete i in.** CyTA-Journal of Food, 12021, 9(1):448–456. **Barpete i in.** Plant Cell Tiss. Organ Cult. 2020, 142(3): 625–634. **Beale.** Photosynth. Res. 1999, 60, 43–73. **Bertazzini i in.** J. Plant Physiol. 2018, 226:145–153. **Blum.** Plant Cell Environ. 2017, 40:4–10. **Bonifacio i in.** Plant Cell Environ. 2011, 34:1705–1722. **Byrt i in.** Plant Sci. 2018, 269:47–55. **Couée i in.** J. Exp. Bot. 2006, 57:449–459. **Dai.** Nat Clim Change 2013, 3(1):52–58. **Dalal, Tripathy.** Plant Cell Environ. 2012, 35:1685–1703. **Dash, Panda.** Biol Plant 2001, 44(4):587–589. **Davey i in.** Anal. Biochem. 2005, 347:201–207. **Esechie i in.** J Agron Crop Sci 2002, 188:155–160. **Eziz i in.** Ecol. Evol. 2017, 7:11002–11010. **Farooq i in.** Sustainable Agriculture. Springer Netherlands. 2009, pp 185–212. **Forlani i in.** Recent Advances and Future Perspectives. Springer: Cham, Switzerland, 2019; pp. 73–97. **Hanikenne i in.** Plastid Biology. Advances in Plant Biology; Springer: New York, NY, USA, 2014; Vol. 5, pp. 465–514. **Haque i in.** Food Chem. Toxicol. 2011, 49:583–588. **Hasegawa i in.** Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 2000, 51:463–499. **Hossain i in.** J. Agric. Rural. Dev. 2009, 7:1–8. **Hu, Schmidhalter.** Plant toxicology, 4th edn. Marcel Dekker Inc, New York, 2004, pp 191–224. **Jaleel i in.** Int J Agricult Biol, 2009, 11:100–105. **Jambunathan.** Plant Stress Tolerance. Methods in Molecular Biology, Humana Press. 2010, vol 639, pp.291–297. **Jiang i in.** Biologia 2013, 68(2):231–240. **Jiao i in.** Food Chem. Toxicol. 2011, 49:543–549. **Kaya i in.** J Zhejiang Univ Sci B 2008, 9(5):371–377. **Kaydan, Yagmur.** Afr. J. Biotechnol. 2008, 7:2862–2868. **Kislev.** Econ. Bot. 1989, 43:262–270. **Korus i in.** Żywność Nauka Technologia Jakość, 2002, 09(2):88–98. **Makowski i in.** Molecules 2020, 25:1794. **Manchanda, Garg** Acta Physiol Plant 2008, 30:595–618. **Maphosa, Jideani,** Functional Food-Improve Health through Adequate Food; In Tech d.o.o. Rijeka, Croatia, 2017; Vol. 1, pp. 103–121. **Martín-Cabrejas,** Legumes: Nutritional Quality, Processing and Potential Health Benefits; CPI Group (UK) Ltd.: Croydon, UK, 2019; pp. 1–18. **Matros i in.** Plant J. 2015, 82:822–839. **Mer i in.** J Agron Crop Sci 2000, 185:209–217. **Milczak., Masłowski.** Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Rolnictwo LVIII, 1993, nr 223: 341–346. **Milczak i in.** Lathyrus Lathyrism Newsletter 2001, 2:85–88. **Mokhberdoran i in.** Asian J. Plant Sci. 2009, 8, 409–416. **Munns.** Plant Cell Environ. 2002, 25, 239–250. **Munns.** New Phytol. 2005, 167, 645–663. **Munns.** Plant Responses to Drought and Salinity Stress—Developments in a Post-Genomic Era; Academic Press: Boston, MA, USA, 2011; Vol. 57, pp. 1–32. **Munns i in.** New Phytol. 2020, 225:1091–1096. **Munns, Tester,** Annu. Rev. Plant Biol. 2008, 59:651–681. **Murillo-Amador i in.** J Agron Crop Sci 2001, 188:235–247. **Naikoo i in.** Plant Signaling Molecules; Woodhead Publishing: Sawston, UK, 2019; pp. 157–168. **Nakabayashi i in.** Plant J. 2014, 77:367–379. **Nichols i in.** Environ. Exp. Bot. 2015, 119:40–47. **Noctor i in.** Plant Physiol. 2014, 164:1636–1648. **Nonogaki i in.** Plant Sci. 2010, 179:574–581. **Nxele i in.** S. Afr. J. Bot. 2017, 108:261–266. **Okcui in.** Turk J Agric For 2005, 29:237–242. **Petrovic i in.** Genetika 2016, 48:373–381. **Phung i in.** Plant Physiol. 2011, 157:1746–1764. **Queirós i in.** Biol Plant 2007, 51(4):728–734. **Rai i in.** Environ Exp Bot 2011, 71: 89–98. **Rajjou i in.** Annu. Rev. Plant Biol. 2012, 63:507–533. **Reddy i in.** Improving Crop Resistance to Abiotic Stress. 1st Ed. Wiley- VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2012, pp. 993–1030. **Rybiński.** Lathyrus Lathyrism Newsletter 2003, 3:27–31. **Rybiński i in.** Acta Agrophysica 2005, 5(1):137–147. **Sahin i in.** Sci. Hortic. 2018, 240:196–204. **Salehi-Lisar, Bakhshayeshan-Agdam,** Drought Stress Tolerance in Plants; Springer: Cham, Germany, 2016; Vol. 1, pp. 1–16. **Saxena i in.** Plant Arch. 2019, 19:50–58. **Shitole, Dhumal,** Int. J. Pharmaceut. Sci. Res. 2012, 3:528–531. **Talukdar.** J Med Plants Res 2011, 5(16):3619–3628. **Talukdar.** ISRN Agron 2013:15. **Tamburino i in.** Aust J Crop Sci 2012, 6:149–156. **Tester, Davenport.** Ann Bot 2003, 91:503–527. **Turner.** J. Exp. Bot. 2018, 69:3223–3233. **van Doorn; Ketsa.** ostarvest Biol. Technol. 2014, 95:64–69. **Vaz Patto, Rubiales.** Ann. Bot. 2014, 113:895–908. **Verbruggen, Hermans.** Amino Acids 2008, 35:753–759. **Verslues i in.** Plant J. 2006, 45:523–539. **Wani i in.** Curr. Genom. 2013, 14:157–165. **Weidneri in.** Acta Soc Bot Pol 2009, 78(2):97–103. **Wild.** Soils, land and food. Managing the land during the twenty-first century. Cambridge University Press, Cambridge 2003. **Xiong i in.** Plant Growth Regul. 2016, 78:217–231. **Xiong i in.** Plant Physiol. Biochem. 2006, 44:161–169. **Yan i in.** Phytochem 2006, 67:107–121. **Zeid, Shedeed.** Biol Plant 2006, 50(4):635–640. **Zhang i**

in. Isr. J.Plant Sci. 2005, 53:89–96. **Zhou i in.** Phytochem 2001, 58:759–762. **Zivcak i in.** *Drought Stress Tolerance in Plants*;Springer: Cham, Germany, 2016; Vol. 1, pp. 105–143.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Zakres tematyczny podejmowanych przeze mnie dotychczas prac naukowo-badawczych obejmował zagadnienia związane z:

- I. kulturami protoplastów różnych gatunków roślin;
- II. kulturami tkankowymi lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.);
- III. reakcją roślin na czynniki stresowe jak:
 - a. metale śladowe;
 - b. natężenie i skład spektralny światła;
 - c. susza, zasolenie i niska temperatura;
 - d. szkodniki;
- IV. elicytacją związków biologicznie-czynnych u roślin mięsożernych;
- V. endopoliploidalnością nasion;
- VI. kulturami *in vitro* różnych gatunków roślin tolerancyjnych na metale śladowe.

I. Kultury protoplastów różnych gatunków roślin

Początki mojej pracy naukowej związane są z roślinnymi kulturami *in vitro* i wpływem biotycznych czynników stresowych na rozwój protoplastów i komórek. W ramach pracy magisterskiej, wykonywanej pod kierunkiem dr Ewy Grzebelus, na specjalizacji Genetyka, Hodowla i Biotechnologia Roślin, Wydziału Ogrodniczego AR w Krakowie zajmowałam się selekcją *in vitro* w kulturach protoplastów marchwi (*Daucus carota* L.) pod kątem tolerancji na grzyba *Alternaria radicina* wywołującego czarną zgniliznę marchwi. Celem badań było sprawdzenie aktywności mitotycznej pięciodniowej kultury protoplastów w pożywce zawierającej różne stężenia mieszaniny nieoczyszczonych metabolitów z dwutygodniowej kultury grzyba (tzw. filtratu pokulturowego). Z kultur zawierających najmniejszą, tj. 1% dawkę czynnika selekcyjnego, uzyskano minikalus, a następnie zarodki somatyczne, z których zregenerowano rośliny o potencjalnej tolerancji na *A. radicina* (Piwowarczyk i Grzebelus 2007, doniesienia D1-D3, zał. 4). W kolejnych latach mojej pracy badawczej zajmowałam się kulturami protoplastów roślin strączkowych. Badania, zmierzające do uzyskania żywotnych i dzielących się kultur protoplastów, prowadziłam przede wszystkim na lędźwianie siewnym, ale także na innych gatunkach z rodzaju *Lathyrus*. Efektem podjętych prac było zoptymalizowanie procedury: izolacji oraz wczesnych etapów kultury protoplastów polskich odmian lędźwianu siewnego (Piwowarczyk i Pindel 2015) oraz izolacji protoplastów *L. cicera* i *L. tingitanus* (doniesienie D22, zał. 4). Napotkane, w trakcie tych badań, trudności w uzyskaniu żywotnych i dzielących się kultur protoplastów skierowały moją uwagę na problemy związane z odbudową ściany komórkowej protoplastów, co zaowocowało badaniami także na łubinie żółtym oraz roślinach jednoliściennych: jak hiacynt czy szparag, znanych ze swojej ‘oporności w kulturach *in vitro*’ (Pindel i in. 2012, Wiszniewska i in. 2012, Wiszniewska i Piwowarczyk 2014, Wiszniewska i Piwowarczyk 2015, doniesienia D10-D12, D16-17, D19, D21, D31, zał. 4). W latach 2011 i 2013, w ramach badań

nad izolacją i kulturą protoplastów byłam kierownikiem i głównym wykonawcą dwóch projektów finansowanych z dotacji celowej na prowadzenie badań naukowych dla młodych pracowników oraz uczestników studiów doktoranckich tj.: „Badania nad odtwarzaniem ściany komórkowej i stabilizacją kultur protoplastów mezofilowych polskich odmian lędwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.)” oraz „Optymalizacja izolacji i wstępne etapy kultury protoplastów *Lathyrus tingitanus* i *Lathyrus cicera*”. Ponadto podejmowałam się również prób zoptymalizowania izolacji protoplastów gatunków roślin ozdobnych (doniesienie D4, zał. 4) i roślin tolerancyjnych na metale śladowe (doniesienie D32, zał. 4).

- Pindel A., Wiszniewska A., **Piwowarczyk B.** 2012. Plant protoplasts in stress conditions – pioneer studies of professor Edward Pojnar and their continuations, *BioTechnologia*, 93(2): 81-86
- Piwowarczyk B.**, Grzebelus E. 2007. Ocena rozwoju protoplastów marchwi (*Daucus carota* L.) na pożywcze z dodatkiem filtratu pokulturowego z *Alternaria radicina*. Zeszyty Naukowe AR w Krakowie. Sesja Naukowa, nr 444, z. 93, tom 2: 575-580
- Piwowarczyk B.**, Pindel A. 2015. Determination of an optimal isolation and culture conditions of grass pea protoplasts. *BioTechnologia*, 96(2): 192-202
- Wiszniewska A., **Piwowarczyk B.** 2014. Studies on cell wall regeneration in protoplast culture of legumes; the effect of organic medium additives on cell wall components. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 50(2): 84-91
- Wiszniewska A., **Piwowarczyk B.** 2015. Activity of selected components of antioxidant system in grass pea and yellow lupin protoplasts after enzymatic isolation. *BioTechnologia*, 96(4):285-292
- Wiszniewska A., **Piwowarczyk B.**, Pindel A. 2012. The influence of isolation stress on the (re)organization of cell walls in protoplasts of *in vitro* recalcitrant plants, *BioTechnologia*, 93(2): 102-108

II. Kultury tkankowe lędwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.)

W 2006 roku rozpoczęłam studia doktoranckie w Katedrze Botaniki, Wydziału Ogrodniczego AR w Krakowie. W ramach pracy doktorskiej wykonywałam badania pod kierunkiem prof. dr hab. Anny Pindel. Prowadzone przez ze mnie prace, były pierwszymi w Polsce zmierzającymi do zapoczątkowania kultur tkankowych polskich odmian lędwianu siewnego ('Derek' i 'Krab'). W związku z małą popularnością tego wyjątkowego gatunku, jego hodowla została zaniedbana, co poskutkowało małą zmiennością dostępnej puli genetycznej. Kultury tkankowe, które mogą być źródłem zmienności somaklonalnej, dają możliwość uzyskania materiału roślinnego o nowych cechach. W ramach badań zoptymalizowałam techniki mikrorozmnażania, jak również indukcji i namnażania tkanki kalusowej lędwianu (Piwowarczyk 2008, Piwowarczyk 2009, Piwowarczyk i Pindel 2009, Piwowarczyk i Pindel 2010, doniesienia D5-7,9,24, zał. 4). Uzyskanie roślin poprzez organogenezę lub embriogenezę pośrednią (za pośrednictwem kalusa) okazało się bardzo wymagające. W efekcie prowadzonych w tym celu badań obserwowano jedynie częstą ryzogenezę (Piwowarczyk i in. 2016, doniesienie D28, zał. 4) oraz wczesne etapy somatycznej embriogenezy (Piwowarczyk i Pindel 2014, doniesienie D15, zał. 4). Podczas optymalizacji mikrorozmnażania często obserwowano spontaniczne zawiązywanie pąków kwiatowych, kwitnienie, a czasem także zawiązywanie owoców – zjawiska niezbyt powszechne w warunkach *in vitro* (doniesienie D14, zał. 4). W roku 2008 zostałam laureatką konkursu 'InnoGrant – Projekt wspierania innowacyjnej działalności doktorantów' w ramach którego uzyskałam stypendium na prowadzenie opisywanych badań.

- Piowarczyk B.** (2008). Kultury tkankowe lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.). Wielokierunkowość badań w rolnictwie i leśnictwie, Monografia, Wydawnictwo UR w Krakowie. Tom 1: 189-195.
- Piowarczyk B.** (2009). Kultura kalusa lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.). Wielokierunkowość badań w rolnictwie i leśnictwie, Monografia, Wydawnictwo UR w Krakowie. Tom 1: 247-253.
- Piowarczyk B., Pindel A.** 2009. Indukcja i namnażanie kalusa w kulturach *in vitro* lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.) odmiany 'Derek'. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 534: 223-229.
- Piowarczyk B., Pindel A.** 2010. Próby rozmnażania lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.) technikami *in vitro*. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 555: 147-155.
- Piowarczyk B., Pindel A.** 2014. Early stages of somatic embryogenesis in root callus of grasspea (*Lathyrus sativus* L.). Journal of Central European Agriculture, 15(3): 209-218.
- Piowarczyk B., Pindel A., Muszyńska E.** 2016. Callus induction and rhizogenesis in *Lathyrus sativus* L. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 64(1): 123-128.

III. Reakcja roślin na czynniki stresowe:

a) Metale śladowe

W kolejnych latach mojej pracy badawczej zajmowałam się reakcją różnych roślin, zarówno uprawnych jak i dziko rosnących, w tym metalofitów, na stres związany z obecnością metali śladowych w podłożu.

Jednym z najbardziej toksycznych metali ciężkich zagrażających zdrowiu człowieka jest ołów. Mimo znacznie obniżonego stężenia Pb w atmosferze, pierwiastek ten nadal obecny jest w glebie skąd pobierany przez rośliny może przedostawać się do łańcucha pokarmowego. Wraz ze współpracownikami badałam strategię przetrwania roślin do zwiększonego stężenia ołowiu w podłożu (Tokarz i in. 2020b). Naszym celem była ocena strategii tolerancji roślin w aspekcie roli wiązania ołowiu do struktur komórkowych i/lub zdolności adaptacji aparatu fotosyntetycznego do zwiększonej koncentracji ołowiu w podłożu. W celu wykluczenia innych niekorzystnych czynników (susza, wysoka intensywność światła, patogeny itp.) wpływających na metabolizm roślin, doświadczenia prowadzono w stabilnych i kontrolowanych warunkach kultur *in vitro*. Jednym z badanych gatunków roślin był przelot pospolity (*Anthyllis vulneraria*), ekotyp rosnący na odpadach po flotacji po wydobywaniu rud cynku i ołowiu. Badania wykazały, że mechanizm radzenia sobie tej rośliny z toksycznością ołowiu polega na zwiększonej syntezie metabolitów, biorących udział w inaktywacji ołowiu, poprzez ograniczenie rozwoju części nadziemnej roślin oraz aklimatyzację aparatu fotosyntetycznego poprzez obniżenie zawartości karotenoidów i chlorofili połączone ze wzrostem liniowej wydajności transportu elektronów poza fotosystem II (PSII) oraz wzrostem puli plastochinonu (Piowarczyk i in. 2018, doniesienia D40 i D43, zał. 4). Badania nad odpowiedzią przelotu pospolitego na zanieczyszczenie ołowiem prowadziłam m.in. w ramach projektu „Rozmnażanie *in vitro* przelotu pospolitego (*Anthyllis vulneraria* L.)” finansowanym z dotacji celowej na prowadzenie badań naukowych dla młodych pracowników oraz uczestników studiów doktoranckich. Kolejną testowaną rośliną była ołownica cejlońska (*Plumbago zeylanica* L.), gatunek, który mimo pewnych przesłanek wskazujących na jej powiązanie z ołowiem (m.in. nazwa rodzajowa, przynależność do rodziny botanicznej zawierającej gatunki wysoce tolerancyjne na zanieczyszczenie ołowiem) nigdy nie była badana pod kątem mechanizmu odpowiedzi na stres wywołany toksycznością ołowiu. Przeprowadzone analizy dają podstawy by przypuszczać, że u roślin ołownicy rosnących na podłożu o niższej zawartości jonów Pb, mechanizm aklimatyzacji aparatu

fotosyntetycznego polega na przejściu w alternatywny przepływ elektronów, tj. pseudocykliczy (chlororespiracja) co pozwoliłoby na utrzymanie stabilnej równowagi oksydoredukcyjnej chloroplastów i brak ryzyka fotoutleniania fotosystemu I (PSI). Natomiast mechanizm aklimatyzacji roślin ołownicy do wyższych stężeń Pb związany jest z dominacją cyklicznego transportu elektronów nad transportem liniowym. Taka strategia pozwoliłaby roślinom na najbardziej efektywne wykorzystanie ograniczonej ilości zaabsorbowanej energii świetlnej przy jednoczesnym zmniejszeniu ryzyka fotoutlenienia zarówno PSII jak i PSI (Tokarz i in. 2020a, doniesienia D44-45, zał. 4).

We współpracy z dr hab. Ewą Muszyńską z Instytutu Biologii, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, zajmowałam się także reakcją różnych gatunków roślin na toksyczność ołowiu, kadmu i cynku. Badania prowadzone były zarówno w warunkach *in vitro* jak i *ex vitro*. Analizowaliśmy zdolność kiełkowania i aktywność enzymów antyoksydacyjnych kiełkujących nasion owsa głuchego (*Avena fatua* L.) traktowanych tlenkiem azotu i nadtlenkiem wodoru w warunkach stresu kadmowego. Zastosowane związki nie wpłynęły istotnie na kiełkowanie nasion w obecności jonów kadmu, ale zmieniały aktywność enzymów antyoksydacyjnych, wskazując, że oba związki mogą uczestniczyć w łagodzeniu stresu (Muszyńska i in. 2014b, doniesienie D25, zał. 4). Brałam również udział w badaniach rokitnika zwyczajnego (*Hippophaë rhamnoides* L.) mających na celu ocenę kondycji tych roślin rosnących w różnych warunkach charakteryzujących się podwyższonym zanieczyszczeniem metalami śladowymi tj. wzdłuż ruchliwej szosy w Krakowie, na składowisku odpadów po procesie flotacji rud Zn i Pb oraz na hałdzie po eksploatacji węgla kamiennego. Uzyskane wyniki świadczyły o dobrym przystosowaniu rokitnika do wzrostu i rozwoju w zdegradowanych obszarach miejskich (Muszyńska i in. 2014a, doniesienie D27, zał. 4). Oceniałam także przydatność wyselekcjonowanych *in vitro* sadzonek *B. laevigata*, ekotypu pochodzący z rodzimej flory Olkuskiego Regionu Rudnego, jako odpowiedniego materiału do rekultywacji *in situ* odpadów silnie zanieczyszczonych ołowiem i kadmem. Nasze doświadczenia prowadzone na różnych poziomach, od laboratoryjnego, poprzez półkontrolowane warunki szklarniowe, aż po naturalną uprawę polową wykazały, że pomimo znaczących różnic w cechach morfologicznych i fizjologicznych roślin w różnych warunkach, rośliny *B. laevigata* namnożone *in vitro* były w stanie przetrwać w trudnych warunkach (Muszyńska i in. 2017). Z kolei, w ostatnich latach, zajmowałam się reakcją ekotypów smagliczki górskiej (*Alyssum montanum*), pochodzących ze stanowisk o wysokiej i niskiej zawartości metali, na cynk (Zn), ołów (Pb) i kadm (Cd) (Muszyńska i in. 2021). Celem tego badania było zidentyfikowanie mechanizmów, które zmniejszają uszkodzenia spowodowane metalami ciężkimi. Z przeprowadzonych badań wynika, że rośliny z miejsc o dużej zawartości metali chronią aparat fotosyntetyczny poprzez syntezę kwasu cynamonowego i jego konwersję do pochodnych kwasu benzoowego, które charakteryzują się wysoką zdolnością antyoksydacyjną. Ponadto charakteryzują się szczególnie wysoką akumulacją kwasu jasmonowego, który stymuluje w tych roślinach system antyoksydacyjny. Natomiast, w drugim ekotypie, który wywodzi się z miejsc ubogich w metale, strategię radzenia sobie z metalami ciężkimi opierają się głównie na ograniczeniu: przemieszczania się metali wraz z przepływem transpiracyjnym i dystrybucji w liściach.

Uczestniczyłam również w badaniach nad wykorzystaniem rzęśli długoszyjkowej (*Callitriche cophocarpa*) w fitoremediacji. Oprócz szczególnego zastosowania *C. cophocarpa*

do fitoremediacji systemów wodnych, gatunek ten może służyć jako dobry model do badania wpływu chromu na komórki i tkanki. Głównym celem badań było wykazanie, czy traktowanie chromianem zmienia profil białkowy rzęśli długoszyjkowej, a obserwowane zmiany są specyficzne dla Cr(VI) i czy mogą odpowiadać za wspomniane wyżej niezwykle właściwości fitoremediacyjne *C. cophocarpa* (Kaszycki i in. 2018). Analiza enzymatyczna pędów *Callitriche* poddanych działaniu chromianu wykazała obecność nowego enzymatycznego prążka białkowego, którego aktywność przypisano nowo zidentyfikowanemu enzymowi. Przypuszczamy, że fitoremediacja Cr(VI) przy użyciu *C. cophocarpa* może być wspierana przez aktywność reduktazy chromianowej wytwarzanej przez indukowaną oksydoreduktazę chinonową, która może brać udział w procesie bioredukcji Cr(VI) → Cr(III) i w ten sposób umożliwić roślinie radzenie sobie z generowanym przez chromian stresem oksydacyjnym.

- Kaszycki P., Dubicka-Lisowska A., Augustynowicz J., **Piowarczyk B.**, Wesołowski W. 2018. *Callitriche cophocarpa* (water starwort) proteome under chromate stress: evidence for induction of a quinone reductase. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 8928–8942 (D30, D61)
- Muszyńska E., Hanus-Fajerska E., **Piowarczyk B.**, Augustynowicz J., Ciarkowska K., Czech T. 2017. From laboratory to field studies – The assessment of *Biscutella laevigata* suitability to biological reclamation of areas contaminated with lead and cadmium. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 142: 266–273
- Chatterjee S., Walther C., Springer, Cham, Szwajcaria, pp. 117-128.
- Muszyńska E., **Piowarczyk B.**, Kałużny K., Koźmińska A. 2014a. Evaluation of the usefulness of sea buckthorn for planting in various urban areas according to photosynthetic apparatus efficiency and antioxidant activity. *Logistyka*, 4: 4717-4723 (D27)
- Muszyńska E., **Piowarczyk B.**, Kołtoń A., Czaja M. 2014b. Effect of nitric oxide and hydrogen peroxide on seed germination and enzymes activity in *Avena fatua* seedlings under cadmium stress. *Episteme*, 22/ t. III: 123-130 (D25)
- Muszyńska E., Tokarz K.M., Dziurka M., Labudda M., Dziurka K., **Tokarz B.** 2021. Photosynthetic apparatus efficiency, phenolic acid profiling and pattern of chosen phytohormones in pseudometallophyte *Alyssum montanum*. *Scientific Reports*, 11, 4135.
- Piowarczyk B.**, Tokarz K., Muszyńska E., Makowski W., Jędrzejczyk R., Gajewski Z., Hanus-Fajerska E. 2018. The acclimatization strategies of kidney vetch (*Anthyllis vulneraria* L.) to Pb toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 19739-19752
- Tokarz K.M., Makowski W., **Tokarz B.**, Hanula M., Sitek E., Muszyńska E., Jędrzejczyk R., Banasiuk R., Chajec Ł., Mazur S. 2020a. Can Ceylon Leadwort (*Plumbago zeylanica* L.) Acclimate to Lead Toxicity?—Studies of Photosynthetic Apparatus Efficiency. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5): 1866.
- Tokarz, K., **Piowarczyk, B.**, Makowski, W. 2020b. Mechanisms involved in photosynthetic apparatus protection against lead toxicity. [W:] *Lead in Plants and the Environment*. [Red.] Gupta D.K., *Lead in Plants and the Environment*. [Red.] Gupta D.K., Chatterjee S., Walther C., Springer, Cham, Szwajcaria, pp. 117-128

b) Natężenie i skład spektralny światła

W kolejnych latach mojej pracy naukowej badałam także odpowiedź różnych roślin na stres wywołany zmianami w natężeniu i składzie spektralnym światła. Uczestniczyłam w określeniu reakcji roślin mięsożernych – muchołówki amerykańskiej (*Dionaea muscipula* J. Ellis) na różne warianty jakości i ilości światła, w kontekście produkcji metabolitów wtórnych - w szczególności związków fenolowych (Tokarz i in. 2018). Po raz pierwszy zaobserwowano znaczny wzrost syntezy pochodnych kwasu cynamonowego i plumbaginy związany z

wyższym natężeniem i zmienionym składem spektralnym światła. Może to sugerować, że 1,4-naftochinony są zaangażowane w fotoprotekcję i/lub aktywność antyoksydacyjną w tkankach muchołówki.

W ramach badań nad odpowiedzią muchołówki amerykańskiej na stres związany ze zmienionym składem spektralnym światła byłam kierownikiem i głównym wykonawcą w projekcie pt. „Aklimatyzacja aparatu fotosyntetycznego muchołówki amerykańskiej w warunkach promieniowania UV-A”. Badania przeprowadzone w niniejszym projekcie wykazały, że rośliny *D. muscipula* przeszły dwie fazy przystosowania do zwiększonego promieniowania UV-A. Pierwsza - obserwowana u roślin ‘UV’, była fazą regulacyjną, gdzie obserwowane dostosowania w działaniu aparatu fotosyntetycznego związane były z wykorzystaniem dostępnych mechanizmów zapobiegających nadmiernej redukcji RC PSII. Druga – obserwowana u roślin ‘recovery’ – to proces aklimatyzacji. U tych roślin faza regulacyjna wyczerpywała się, co skutkowało spadkiem wydajności fotosyntezy, a to implikowało inicjację procesu aklimatyzacji związaną z aktywacją alternatywnych cykli transportu elektronów i zmniejszeniem ilości pochłanianej energii poprzez zmniejszenie anten i przebudowę struktur ściany komórkowej w celu skutecznej biernej ochrony przed nadmiernym promieniowaniem docierającym do aparatu fotosyntetycznego (Miernicka i in. 2022, doniesienia D57-58, zał. 4).

Zajmowałam się także odpowiedzią roślin lędźwianu siewnego na stres promieniowania UV-A (Tokarz i in. 2019). Celem badań było sprawdzenie, czy promieniowanie UV-A : światło czerwone (10:90) umożliwi szybką aklimatyzację aparatu fotosyntetycznego lędźwianu siewnego do negatywnego działania UV-A. W roślinach poddanych krótkotrwałemu działaniu UV-A obserwowano wzrost wydajności karboksylacji CO₂. Wynikało to z wydajnego liniowego transportu elektronów dzięki zachowaniu m.in. efektywnego kompleksu rozkładającego wodę (ang. OEC, oxygen evolving complex).

- Miernicka K, **Tokarz B**, Makowski W, Mazur S, Banasiuk R, Tokarz KM. (2022) The Adjustment Strategy of Venus Flytrap Photosynthetic Apparatus to UV-A Radiation. *Cells*, 11(19):3030
- Tokarz K., Makowski W., Banasiuk R., Krolicka A., **Piowarczyk B.** 2018. Response of *Dionaea muscipula* J. Ellis to light stress in in vitro - physiological study. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 134: 65-77 (D33 I D35 Drosera, D41, D47, D57, D58)
- Tokarz K; **Piowarczyk B**; Wysocka A; Wojtowicz T; Makowski W; Golemic E. 2019. Response of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) photosynthetic apparatus to short-term intensive UV-A:red radiation. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41(10): 168

c) Susza, zasolenie i niska temperatura

W ramach badań nad mechanizmami odpowiedzi lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.) na suszę i zasolenie, opisanych w artykułach wchodzących w skład cyklu powiązanych tematycznie artykułów niniejszego autoreferatu, byłam kierownikiem i głównym wykonawcą projektów finansowanych z dotacji celowej na prowadzenie badań naukowych dla młodych pracowników oraz uczestników studiów doktoranckich pt.: „Wpływ stresu osmotycznego na regenerację pędów w kulturze zarodków zygotycznych rodzaju *Lathyrus*” (2012) i „Wpływ stresów abiotycznych na kiełkowanie nasion, wzrost i rozwój roślin z rodzaju *Lathyrus* oraz ich właściwości fizjologiczne i biochemiczne” (2014 i 2015).

Ponadto, brałam również udział w doświadczeniach nad reakcją aparatu fotosyntetycznego lędźwianu siewnego na wspomniane stresory (Tokarz i in. 2021, doniesienia D50,51,54,55, zał. 4). Siewki lędźwianu siewnego odmiany Krab były uprawiane w systemie hydroponicznym w pożywkach zawierających różne stężenia NaCl (0, 50 i 100 mM), imitujące odpowiednio brak, umiarkowane i silne zasolenie, przez trzy tygodnie. W celu scharakteryzowania funkcji i struktury aparatu fotosyntetycznego wykonano m.in. fluorescencję Chl *a*, pomiary wymiany gazowej, analizę proteomu oraz spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR). Zaobserwowano istotne różnice w odpowiedzi aparatu fotosyntetycznego liści i łodyg na silny stres solny. Liście stały się miejscem akumulacji szkodliwych jonów (Na^+), a efektywność ich karboksylacji gwałtownie spadała. Z kolei w łodygach przebudowa aparatu fotosyntetycznego (kompleksy antenowe i fotosystemowe) aktywowała alternatywne szlaki transportu elektronów, prowadząc do efektywnej syntezy ATP, niezbędnej do sprawnej translokacji Na^+ do liści. Zmiany te umożliwiły efektywną karboksylację łodyg i uczyniły je głównym źródłem asymilatów.

Z kolei, w ostatnich czasie zaczęłam prowadzić badania nad odpowiedzią lędźwianu siewnego na stres niskiej temperatury. Celem wstępnych doświadczeń było zbadanie odpowiedzi siewek lędźwianu siewnego na stres zimna na poziomie fizjologicznym, w tym określenie jak stres ten regulowałby zawartość ODAP w genotypach o niskim i wysokim poziomie tej neurotoksyny w nasionach (doniesienie D60, zał. 4). Wyniki badań wykazały m.in. że stres niskiej temperatury indukował wzrost zawartości ODAP we wszystkich organach odmiany Krab i brak zmian w linii S95.

Tokarz K.M., Wesołowski W., **Tokarz B.**, Makowski W., Wysocka A., Jędrzejczyk R.J., Chrabaszcz K., Malek K., Kostecka-Gugała A. 2021. Stem Photosynthesis—A Key Element of Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.) Acclimatisation to Salinity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2):685.

d) Szkodniki

Poza reakcją roślin na abiotyczne stresory, uczestniczyłam także w badaniach oceniających reakcję roślin na szkodniki. Badania, prowadzone we współpracy z dr hab. inż. Mateuszem Labuddą z Instytutu Biologii, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, miały na celu określenie reakcji jęczmienia na dwa szkodniki: nicien (*Heterodera filipjevi* (Madzhidov) Stelter) i szpeciel (*Aceria tosichella* Keifer), atakujące go oddzielnie lub jednocześnie (Labudda i in. 2020). Zerowanie szpeciele (samo lub łącznie z nicieniem) prowadziło do spadku asymilacji CO_2 przez rośliny jęczmienia. Ponadto rośliny atakowane przez oba szkodniki aktywowały enzymatyczne i nieenzymatyczne antyoksydanty w celu ochrony przed zwiększającą się produkcją RFT i powstającymi uszkodzeniami oksydacyjnymi. Z kolei, w roślinach na których żerował sam nicien, obserwowano wzrost efektywności fotosyntezy. Wyniki sugerowały, że w celu opanowania stresu, wynikającego z żerowania obu szkodników, rośliny indukują wieloskładnikową biochemiczno-fizjologiczną, a metabolizm ROS i regulacji fotosyntezy są ściśle ze sobą powiązane.

Labudda M., Tokarz K., **Tokarz B.**, Muszyńska E., Gietler M., Górecka M., Różańska E., Rybarczyk-Płońska A., Fidler J., Prabucka B., Dababat A.A., Lewandowski M. (2020). Reactive oxygen species metabolism and photosynthetic performance in leaves of *Hordeum vulgare* plants co-infested with *Heterodera filipjevi* and *Aceria tosichella*. *Plant Cell Reports*, 39 (12):1719-1741

IV. Elicytacja związków biologicznie-czynnych u roślin mięsożernych

Od 2015 roku biorę również udział w badaniach nad roślinami mięsożernymi z rodziny Droseraceae. Badania prowadzę we współpracy z dr hab. Aleksandrą Królicką, kierującą Zakładem Badania Związków Biologicznie Czynnych, Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Przedmiotem badań jest głównie muchołówka amerykańska (*Dionaea muscipula* J. Ellis.) ale także wybrane gatunki rosiczek (*Drosera* sp.). Gatunki te charakteryzują się dużą zawartością związków fenolowych w tym pochodnej 1,4-naftochinonów – plumbaginy, znanej ze swoich właściwości antybakteryjnych, antyrodnikowych i prozdrowotnych. W badaniach skupiamy się głównie na możliwościach zwiększenia produkcji metabolitów wtórnych w tych roślinach, stosując różnego rodzaju elicytory, ale także na odpowiedzi na pytanie jakie procesy fizjologiczne i molekularne pozwalają roślinie na taką reakcję. W ramach badań nad elicytacją opublikowano 4 publikacje w których sprawdzano: czy kombinacja światła czerwonego i niebieskiego będzie dobrym elicytorem związków fenolowych w roślinach *D. muscipula* i *Drosera peltata* (Makowski i in. 2019), czy zmiana sposobu kultuwacji roślin i zastosowanie lizatów bakteryjnych będą skutecznie zwiększać produkcję plumbaginy (Makowski i in. 2020), czy transformacja roślin dzikim szczepem *Rhizobium rhizogenes* będzie zwiększać syntezę wybranych związków fenolowych, zwłaszcza plumbaginy (Makowski i in. 2021a) oraz w jaki sposób wpływa na wybrane parametry fizjologiczne (Makowski i in. 2021b). Wyniki badań prezentowano także na licznych konferencjach (doniesienia D22, 24, 27, 30, 36, 38, 41, 44, 47, 56, 59, zał. 4).

- Makowski W., Królicka A., Nowicka A., Zwyrtková J., **Tokarz B.**, Pecinka A., Banasiuk R., Tokarz K.M. 2021a. Transformed tissue of *Dionaea muscipula* J. Ellis as a source of biologically active phenolic compounds with bactericidal properties Applied Microbiology and Biotechnology, 105:1215-1226.
- Makowski W., Królicka A., **Tokarz B.**, Miernicka K., Kołton A., Pięta Ł., Malek K., Ekiert H. Szopa A. & Tokarz, K. M. (2021b). Response of physiological parameters in *Dionaea muscipula* J. Ellis teratomas transformed with rolB oncogene. BMC plant biology, 21: 564.
- Makowski W., **Tokarz B.**, Banasiuk R., Królicka A., Dziurka M., Wojciechowska R., Tokarz, K. M. 2019. Is a blue–red light a good elicitor of phenolic compounds in the family Droseraceae? A comparative study. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 201: 111679.
- Makowski W., Tokarz K.M., **Tokarz B.**, Banasiuk R., Witek K., Królicka A. 2020. Elicitation-based method for increasing the production of antioxidant and bactericidal phenolic compounds in *Dionaea muscipula* J. Ellis Tissue. Molecules, 25(8), 1794.

V. Endopoliploidalność nasion

W roku 2018 odbywałam staż w Centrum Genomiki Strukturalnej i Funkcjonalnej, Instytutu Botaniki Eksperymentalnej, Czeskiej Akademii Nauk w Ołomuńcu (Czechy). W ramach stażu uczestniczyłam w projekcie: “Analysis of nuclear organization and dynamics in endosperm tissues of barley”. Moje zadanie polegało na analizie ploidalności komórek bielma nasion jęczmienia zwyczajnego (*Hordeum vulgare* L.). Głównym celem projektu była analiza epigenetycznej kontroli rozwoju bielma w ziarniakach. Badania prowadzone były na mutantach jęczmienia z zaburzonym rozwojem bielma oraz odpowiadających im odmianach rodzicielskich, a także na liniach dzikich. Wyniki przeprowadzonych badań zostały

opublikowane w 2 artykułach. W pierwszej publikacji (Nowicka i in. 2021a) badano dynamikę cyklu mitotycznego i endoreduplikacji w poszczególnych tkankach nasion podczas 7 tygodni rozwoju ziarniaków jęczmienia. Stwierdzono wysoki stopień endoreduplikacji w bielmie i preferencyjną eliminację jąder endopoliploidalnych w tkankach rozwijających się podczas drugiego etapu wzrostu ziarniaków. W drugiej publikacji (Nowicka i in. 2021b), głównym celem pracy było zbadanie dynamiki endoreduplikacji w tkankach nasiennych dzikiego jęczmienia pochodzącego z różnych stref klimatycznych Izraela. Stwierdzono, że odmiany jęczmienia dzikiego pochodzące ze środowisk kserotermicznych mają średnio wyższy udział endoreduplikowanych jąder w tkankach nasion. Wskazuje to na wpływ trudnych warunków na endopoliploidyzację.

Nowicka A., Kovacik M., **Tokarz B.**, Vrána J., Zhang Y., Weigt D., Doležel J., Pecinka A. 2021a. Dynamics of endoreduplication in developing barley seeds. *Journal of Experimental Botany*, 72(2):268-282. (D53)

Nowicka A., Sahu P.P., Kovacik M., Weigt D., **Tokarz B.**, Krugman T., & Pecinka A. 2021b. Endopolyploidy Variation in Wild Barley Seeds across Environmental Gradients in Israel. *Genes*, 12(5): 711.

VI. Kultury *in vitro* różnych gatunków roślin tolerancyjnych na metale śladowe

W ramach prac prowadzonych w kulturach *in vitro*, zajmowałam się także opracowywaniem protokołów rozmnażania różnych gatunków roślin, charakteryzujących się podniesioną tolerancją na metale śladowe. W celu przygotowania materiału roślinnego do badań testujących oddziaływanie chromu na rośliny, opracowałam technikę rozmnażania *in vitro* wodnej rośliny - *Callitriche cophocarpa* (doniesienie D20, zał. 4). Opracowałam również technikę inicjacji i namnażania tkanki kalusowej oraz wydajną izolację protoplastów mezofilowych roślin pleszczotki górskiej (*Biscutella laevigata* L.) (Wiszniewska i in. 2020, doniesienie D26, zał. 4). Ponadto, opracowałam także protokół wydajnego mikrorozmnażania różnych ekotypów przelotu pospolitego (*Anthyllis vulneraria* L.) (doniesienia D37-38,42, zał. 4).

Wiszniewska, A., Muszyńska E., **Tokarz, B.**, Hanus-Fajerska E. (2020). Application of biotechnological methods in studies on *Biscutella laevigata* L. ecotypes. [W:] Buckler mustard (*Biscutella laevigata* L.) an extraordinary plant on ordinary mine heaps near Olkusz. [Red.] Szarek-Lukaszewska G., Wydawnictwo Instytutu Botaniki im. W. Szafera, Kraków, Polska, pp. 261-274

Inne obszary badawcze

W 2018 roku, w ramach stażu w Centrum Genomiki Strukturalnej i Funkcjonalnej, Instytutu Botaniki Eksperymentalnej, Czeskiej Akademii Nauk w Ołomuńcu (Czechy), uczestniczyłam w porównawczej analizie oddziaływania epigenetycznych inhibitorów na *Arabidopsis thaliana*. Opublikowany w Plant Cell eksperyment składał się z 3 zadań badawczych: sprawdzenia działania wybranych inhibitorów metylacji DNA na *Arabidopsis thaliana*, sprawdzenia odpowiedzi transkrypcyjnej roślin po traktowaniu wybranymi inhibitorami oraz sprawdzenia odpowiedzi mutantów naprawy uszkodzeń DNA (ang. DNA damage repair mutants) na wybrane inhibitory (Nowicka i in. 2020).

W 2020 roku odbyłam staż naukowy w ramach stypendium Decaban'a (skrócony do 3 miesięcy w wyniku epidemii Sars-Cov19), w trakcie którego prowadziłam badania w projekcie 'Intercropping with aromatic companion plants to reduce crop pests (invasive fruitfly, *Drosophila suzukii*) in berries'. Celem badań była ocena aromatycznych roślin

międzyplonowych pod kątem odstraszania *D. suzukii* i/lub ich działania letalnego i subletalnego, a także kompatybilności z biologicznym zwalczaniem z wykorzystaniem parazytoidu (*Pachycrepoideus vindemniae*).

Nowicka A., Tokarz B., Zwyrtková J., Dvořák Tomašíková E., Procházková K., Ercan U., Finke A., Rozhon W., Poppenberger B., Otmar M., Niezgodzki I., Krecmerova M., Schubert I., Pecinka A. 2020. Comparative analysis of epigenetic inhibitors reveals different degrees of interference with transcriptional gene silencing and induction of DNA damage. *The Plant Journal*, 102: 68-84

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

Moja działalność dydaktyczna rozpoczęła się od prowadzenia zajęć na Wydziale Ogrodniczym (obecnie Biotechnologii i Ogrodnictwa), Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, już w trakcie studiów doktoranckich (2006-2010). Po rozpoczęciu pracy w Katedrze Botaniki (obecnie Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin) w 2011 roku, prowadziłam i nadal prowadzę kursy dla studentów Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa: 'Botanika', I rok, kierunek Ogrodnictwo, ćwiczenia laboratoryjne i terenowe; 'Botaniczne podstawy sztuki ogrodowej', I rok, kierunek Sztuka Ogrodowa, ćwiczenia laboratoryjne i terenowe; 'Podstawy botaniki roślin leczniczych', I rok, kierunek Technologia Roślin Leczniczych i Prozdrowotnych, ćwiczenia laboratoryjne; 'Biologia komórki', I rok, kierunek Biotechnologia, ćwiczenia laboratoryjne; 'Fizjologia roślin z elementami anatomii i morfologii', III rok, kierunek Biotechnologia, ćwiczenia laboratoryjne; 'Biologia rozwoju roślin', przedmiot do wyboru. Prowadziłam i prowadzę zajęcia także dla studentów Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt: 'Botanika i fizjologia roślin', I rok, różne kierunki; 'Podstawy botaniki i fizjologii roślin', II rok, kierunek Bioinżynieria Zwierząt, ćwiczenia laboratoryjne; 'Botanika ogólna', I rok, kierunek Biologia stosowana, ćwiczenia laboratoryjne; 'Biologia komórki', I rok, kierunek Biologia stosowana, ćwiczenia laboratoryjne oraz studentów Wydziału Inżynierii Środowiska i Geodezji: 'Podstawy Botaniki', I rok, kierunek Architektura Krajobrazu, ćwiczenia laboratoryjne. Byłam promotorem 9 prac dyplomowych, w tym 4 prac inżynierskich i 5 prac magisterskich oraz recenzentem 11 prac dyplomowych (5 prac inżynierskich i 6 prac magisterskich).

W roku 2014 prowadziłam wykład i ćwiczenia laboratoryjne w języku angielskim „Plant *in vitro* techniques (Isolation and culture of plant protoplasts)” dla studentów z Kazachstanu, a także wykład i ćwiczenia laboratoryjne „Kultury *in vitro* roślin” dla klasy biologiczno-chemicznej X Liceum Ogólnokształcącego im. K.E.N. w Krakowie.

Opiekowałam się studentami w Kole Naukowym Biotechnologów, sekcji Botaniki i Fizjologii Roślin uzyskując wyróżnienie na Ogólnouczelnianej Sesji Kół Naukowych w 2015. W latach 2016 i 2021 opiekowałam się także studentami w sekcji Fizjologia Roślin w Kole Naukowym Ogrodników. Studenci ci wygłaszali referaty na Wydziałowych i Uczelnianych Sesjach Kół Naukowych, z których jeden zajął pierwsze miejsca (2016) i jeden trzecie (2016).

W roku 2011 pracowałam na stanowisku sekretarza Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej, w celu przeprowadzenia naboru kandydatów na studia I stopnia na rok akademicki 2011/2012. W latach 2016 - 2019 byłam członkiem Rady Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa jako przedstawiciel pracowników niesamodzielných oraz członkiem Komisji ds. Dydaktycznych i Studenckich. W latach 2015 - 2017 byłam

opiekunem roku studiów stacjonarnych dla kierunku Biotechnologia. Ponadto w latach 2016 - 2019 byłam Pełnomocnikiem Dziekana ds. Praktyki Zawodowej na kierunkach Ogrodnictwo, Sztuka Ogrodowa i Technologia Roślin Leczniczych i Prozdrowotnych.

W latach 2014 - 2017 aktywnie uczestniczyłam w organizacji Festiwalu Nauki i Sztuki w Krakowie oraz Małopolskiej Nocy Naukowców.

.....
(podpis wnioskodawcy)