

DR INŻ. MAGDALENA SIMLAT, profesor URK

Katedra Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa

Wydział Rolniczo-Ekonomiczny

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Koffątaja w Krakowie

Załącznik nr 3

Autoreferat

1. Imię i nazwisko

MAGDALENA SIMLAT

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

Dyplom magistra inżyniera ogrodnictwa, specjalizacja genetyka i hodowla roślin, Wydział Ogrodniczy*, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie**, 2000 r.

Tytuł pracy: **Badanie zróżnicowania genetycznego w materiałach hodowlanych kapusty głowiastej białej (*Brassica oleracea* var. *capitata*) przy wykorzystaniu techniki RAPD**

Promotor: prof. dr hab. Dariusz Grzebelus

Dyplom doktora nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwa, specjalność naukowa genetyka i hodowla roślin, Wydział Ogrodniczy*, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie**, 2004 r.

Tytuł pracy: **Ocena różnic w odporności marchwi na połyśnicę marchwiankę na podstawie doświadczeń polowych, analiz chemicznych i molekularnych**

Promotor: prof. dr hab. Barbara Michalik

Dyplom Studium Pedagogicznego dla nauczycieli akademickich, Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki w Krakowie, Studium Pedagogiki i Psychologii, 2013 r.

Dyplom Studium Podyplomowego, Biologia molekularna, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, 2020 r.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

X-XII 2004 technik, Katedra Genetyki, Hodowli i Nasiennictwa, Wydział Ogrodniczy*, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie**

I-VIII 2005 starszy technik, Katedra Genetyki, Hodowli i Nasiennictwa, Wydział Ogrodniczy*, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie**

IX 2005-I 2007 asystent, Katedra Hodowli Roślin i Nasiennictwa, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie**

II 2007-XII 2019 adiunkt naukowo-dydaktyczny, Katedra Hodowli Roślin i Nasiennictwa, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie**

I-XII 2020 adiunkt badawczo-dydaktyczny, Katedra Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

od I 2021 profesor uczelni, Katedra Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Autoreferat

W latach 2006 i 2011 przebywałam na urloпах macierzyńskich oraz w roku 2011 na urlopie zdrowotnym, łącznie 10 miesięcy.

* od 2014 r. Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa

** od 2008 r. Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.)

A. tytuł osiągnięcia naukowego będącego cyklem powiązanych tematycznie artykułów naukowych

Optymalizacja kiełkowania nasion *Stevia rebaudiana* Bertoni w warunkach *in vitro*

B. publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

B1. Simlat M., Ślęzak P., Moś M., Warchoł M., Skrzypek E., Ptak A. 2016. The effect of light quality on seed germination, seedling growth and selected biochemical properties of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Scientia Horticulturae* 211: 295-304

MNiSW₂₀₁₆: **35**, IF₂₀₁₆: **1,624**, cytacje **49**

B2. Simlat M., Skrzypek E., Warchoł M., Maciaszek I., Ptak A. 2019. Evaluation on *Stevia rebaudiana* Bertoni seed germination and seedling development under phytohormones treatment. *Scientia Horticulturae* 257: 108717

MNiSW₂₀₁₉: **140**, IF₂₀₁₉: **2,769**, cytacje **3**

B3. Simlat M., Ptak A., Skrzypek E., Warchoł M., Morańska E., Piórkowska E. 2018. Melatonin significantly influences seed germination and seedling growth of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *PeerJ* 6: e5009

MNiSW₂₀₁₈: **35**, IF₂₀₁₈: **2,353**, cytacje **26**

B4. Simlat M., Szewczyk A., Ptak A. 2020. Melatonin promotes seed germination under salinity and enhances the biosynthesis of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *PLoS ONE* 15(3): e0230755

MNiSW₂₀₂₀: **100**, IF₂₀₂₀: **3,240**, cytacje **4**

Suma punktów MNiSW: **310**

Sumaryczny IF: **9,986**

Suma cytacji: **82**

We wszystkich wymienionych pracach jestem jedynym autorem korespondencyjnym. Liczbę punktów MNiSW oraz Impact Factor (IF) podano wg roku opublikowania na podstawie odpowiednio, wykazu czasopism naukowych MNiSW oraz bazy Journal Citation Reports (JCR, Web of Science). Cytacje podano według bazy JCR (8 marca 2022).

- C. oświadczenia współautorów powyższych prac określające indywidualny wkład w powstanie w/w publikacji stanowi załącznik nr 6 do niniejszego wniosku.
- D. omówienie celu ww. prac, osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

WSTĘP I CEL BADAŃ

Stewia (*Stevia* Cav.) jest rodzajem w obrębie rodziny *Asteraceae*, do którego należy około 230 gatunków [Borgo i in. 2021]. Spośród nich tylko *Stevia rebaudiana* Bertoni ($2n=22$) wykazuje zdolność do biosyntezy glikozydów stewiolowych [Peteliuk i in. 2021]. Nazwa gatunkowa *Stevia rebaudiana* pojawiła się w literaturze po raz pierwszy w 1905 roku [Kinghorn 2002]. Gatunek ten był początkowo zakwalifikowany do rodzaju *Eupatorium* i nazwany *Eupatorium rebaudianum* na cześć paragwajskiego chemika Ovidio Rebaudi, który po raz pierwszy wyekstrahował z liści stewii związki glikozydowe nadające roślinie słodki smak. W późniejszym czasie, szwajcarski botanik Moisés Santiago Bertoni przypisał ten gatunek do rodzaju *Stevia* i nadał nazwę *Stevia rebaudiana*. Stewia występuje w Ameryce Południowej, głównie w Paragwaju i Brazylii. Obecnie występowanie stewii na stanowiskach naturalnych jest znacznie ograniczone przede wszystkim na skutek nadmiernego wypasu zwierząt i eksploatacji roślin [Sojerto 2001]. Pierwszym krajem, poza kontynentem Ameryki Południowej, do którego sprowadzono nasiona stewii była Wielka Brytania, co miało miejsce w 1943 roku. Obecnie stewia uprawiana jest w wielu rejonach świata, a największymi jej producentami są takie kraje jak: Chiny, Paragwaj, Kenia i USA. W Europie plantacje stewii znajdują się między innymi we Francji, Hiszpanii i na Ukrainie. Z roku na rok zasięg i areał upraw stewii jednak się zwiększa ze względu na rosnący popyt na surowiec roślinny wykorzystywany do ekstrakcji substancji słodzących. W Polsce, ze względu na umiarkowany klimat, stewia ma ograniczone możliwości uprawy w warunkach polowych. Może być jednak uprawiana jako roślina jednoroczna. W ostatnich latach odnotowuje się także wzrost zainteresowania stewią w uprawach amatorskich.

Popularność stewii wynika przede wszystkim z obecności w roślinie glikozydów stewiolowych. Są to związki będące pochodnymi tetracyklicznych diterpenów, a główną częścią ich cząsteczki jest stewiol, połączony wiązaniami glikozydowymi z resztą cukrową [Brandle i Telmer 2007]. W stewii zidentyfikowano około 30 glikozydów stewiolowych, które różnią się częścią cukrową, przy czym głównymi związkami nadającymi roślinie słodki smak są stewiozyd i rebaudiozyd A [Otha i in. 2010, Chaturvedula i Prakash 2011a, Chaturvedula i Prakash 2011b, Chaturvedula i in. 2011, Ceunen i Geuns 2013, Angelini i in. 2018]. Glikozydy stewiolowe występują głównie w liściach, a ich synteza rozpoczyna się w plastydach na drodze szlaku niemewalonowego (MEP; ang. *methylerythritol phosphate pathway*). W liściach, szacowana koncentracja stewiozydu wynosi 6,5 – 9,1%, a rebaudiozydu A 2,3 – 3,8% [Atteh i in. 2011, Goyal i in. 2010]. Mniejsze ich ilości występują także w łodydze i w kwiatach. Zawartość glikozydów stewiolowych zmienia się w zależności od fazy rozwoju rośliny. Badania wykazały, że największe ich ilości gromadzone są w liściach w okresie kwitnienia [Angelini i in. 2018]. Niektóre źródła podają, że zawartość glikozydów stewiolowych zależy od genotypu oraz warunków wzrostu i fotoperiodu [Libik-Konieczny i in. 2021]. Szczególnie korzystna pod tym względem jest uprawa stewii w rejonach dnia długiego, gdzie w konsekwencji opóźnionego kwitnienia następuje, większy przyrost biomasy i zwiększona akumulacja glikozydów stewiolowych [Pal i in. 2015]. Glikozydy stewiolowe wykazują wysokie właściwości słodzące przy bardzo niskiej kaloryczności: stewiozyd jest nawet około 200-450, a rebaudiozyd A 150-350 razy słodszy od

sacharozy przy zerowej wartości energetycznej [Goyal i in. 2010]. Z tego względu substancje te są zalecane jako zamiennik cukru dla osób chorych na cukrzycę, czy będącym na diecie. W krajach Unii Europejskiej glikozydy stewiolowe zostały dopuszczone do spożycia w 2011 roku jako substancje o symbolu E960, a ich maksymalne dobowe spożycie ustalono na 4,0 mg/kg masy ciała [European Food Safety Authority, 2011]. Oprócz właściwości słodzących stewia wykazuje także właściwości antibakteryjne [Jeong i in. 2010, Preethi i in. 2011, Arya i in. 2012, Gamboa i Chaves 2012], antywirusowe [Kedik i in. 2009], antyoksydacyjne [Ghanta i in. 2007; Shukla i in. 2012] i antynowotworowe [Takasaki i in. 2009, Chen i in. 2018]. Badania naukowe wskazują, że regularne spożywanie glikozydów stewiolowych może mieć pozytywny wpływ na organizm człowieka poprzez m.in. obniżenie poziomu glukozy i cholesterolu we krwi, obniżenie ciśnienia, a także poprzez ochronne działanie na trzustkę i nerki. Liście stewii zawierają bowiem wiele cennych składników jak kwasy fenolowe, flawonoidy, kwasy tłuszczowe, witaminy oraz mikro- i makroelementy [Peteliuk i in. 2021].

Stewia rozmnaża się generatywnie oraz wegetatywnie poprzez sadzonki pędowe. Prowadzone są także badania nad opracowaniem efektywnej metody mikrorozmnażania stewii w warunkach *in vitro*. Rozmnażanie stewii przez nasiona mimo, iż jest naturalnym sposobem tworzenia pokolenia potomnego, obarczone jest pewnymi problemami. Po pierwsze, stewia jest rośliną samoniezgodną (samoniezgodność sporofitowa) wymagającą do rozmnażania owadów, a nasiona powstałe w wyniku samozapylenia są nieżywotne [Yadav i in. 2011, Angelini i in. 2018]. Nasiona takie są jednak łatwe do zidentyfikowania - są jasno-kremowe, zaś powstałe w wyniku zapylenia krzyżowego są ciemno-brązowe [Raina i in. 2013]. Po drugie, nasiona stewii, ze względu na niewielki udział w ich masie bielma (masa 1000 nasion wynosi 0,15-0,3 g), szybko tracą żywotność i konieczne jest ich odpowiednie przechowywanie. Po trzecie, nasiona wykazują niską zdolność kiełkowania. Jak podają niektóre źródła, kiełkowanie nasion wynosi zwykle mniej niż 50% [Brandle i in. 1998, Yadav i in. 2011]. Pewnym mankamentem jest także długi czas potrzebny od wysiewu do uzyskania sadzonki nadającej się do założenia plantacji [Colombus 1997, Brandle i in. 1998].

Dlatego niezwykle istotnym jest opracowanie efektywnych metod poprawiających zdolność kiełkowania nasion stewii. Ma to szczególne znaczenie dla zakładania plantacji w rejonach, gdzie stewia może być uprawiana tylko jako roślina jednoroczna, a zatem między innymi w Europie. Coroczne zakładanie plantacji z nasion jest mniej kosztowne i pracochłonne w porównaniu do rozmnażania za pomocą sadzonek pędowych, czy mikrorozmnażania. Nie mniej jednak podstawowym warunkiem takiej opłacalności jest wysoka kiełkowalność nasion. Według wszelkich prognoz zapotrzebowanie na glikozydy stewiolowe będzie się zwiększać, nie tylko ze względu na prognozowany wzrost liczby chorych na cukrzycę, ale także ze względu na zmianę preferencji żywieniowych ludności Europy. Już dziś produkty zawierające glikozydy stewiolowe są zalecane nie tylko chorym na cukrzycę, ale także sportowcom i osobom będącym na diecie. Biorąc pod uwagę rosnący popyt na surowiec roślinny wykorzystywany do ekstrakcji glikozydów stewiolowych, wzrastające koszty jego transportu do Europy oraz często wątpliwą jakość, konieczne jest opracowanie metod poprawiających kiełkowanie nasion tego gatunku.

Przeprowadzone u wielu gatunków badania wskazują na możliwość poprawy kiełkowania nasion poprzez zastosowanie różnych czynników. Dla niektórych gatunków z rodziny Asteraceae wykazano, że światło reguluje proces kiełkowania nasion. Ważna jest nie tylko jego obecność, ale także rodzaj i natężenie. W reakcji na światło niebieskie obserwowano polepszenie kiełkowania nasion *Artemisa monosperma* Delile i *Lactuca sativa* L. [Bewley i Black 2012]. Także dla stewii

obserwowano poprawę kiełkowania w obecności światła czerwonego [Abdullateef i Osman 2011]. W ostatnich latach bardzo popularne w ogrodnictwie staje się stosowanie światła LED (ang. *light emitting diodes*). Jego użycie w uprawie roślin opisano po raz pierwszy w 1991 roku [Bula i in. 1991], a prowadzone od tej pory badania wskazują, że może to być alternatywne źródło światła dla roślin. Systemy LED mają kilka cennych zalet, w tym możliwość kontrolowania składu widma, długi okres eksploatacji, specyficzność długości fali, stosunkowo chłodne powierzchnie emitujące oraz mały rozmiar [Massa i in. 2008]. Jako pierwsi podjęliśmy się kompleksowego zbadania wpływu światła LED na kiełkowanie nasion stewii i dalszy wzrost siewek. Drugim ważnym czynnikiem zaangażowanym w regulację kiełkowania jest temperatura [Heschel i in. 2007, Dechaine i in. 2009, Chen i in. 2013]. W literaturze można znaleźć różne opinie na temat temperatury optymalnej dla kiełkowania nasion stewii. Kumar i Sharma [2012] wykazali, że 20 °C jest temperaturą optymalną do kiełkowania nasion tego gatunku, a temperatury niższe znacznie ograniczają ten proces. Z kolei Takahashi i in. [1996] badając szerszy zakres temperaturowy wykazali, że dla kiełkowania nasion stewii lepsza jest temperatura 25 °C. Niejednoznaczność wyżej przytoczonych wyników, skłania do ich weryfikacji, szczególnie w kontekście wpływu temperatury w kombinacji z innymi czynnikami. Do poprawy kiełkowania powszechnie stosuje się także regulatory wzrostu. Wiadomo, że gibereliny przerywają stan uśpienia zarodka uaktywniając enzymy hydrolityczne [Bewley 1997], a stymulując podziały komórkowe przyczyniają się do wydłużania pędów [Miransari i Smith 2014]. Cytokininy także należą do fitohormonów aktywnie uczestniczących w procesie kiełkowania nasion [Chiwocha i in. 2005, Nikolić i in. 2006, Riefler i in. 2006]. W wielu publikacjach opisano pozytywny wpływ regulatorów wzrostu na kiełkowanie różnych gatunków roślin (np. *Gossypium barbadense*, *Lotus corniculatus*, *Bogbunnia madagascariensis*, *Digitalis purpurea*, *Tectona grandis*, *Exacum trinervium*, *Vigna radiata*) [Sawan i in. 2000, Nikolić i in. 2006, Thokozani i in. 2011, Patil i in. 2012, Akram i Aftab 2015, Dissanayaka i in. 2015, Marutirao, 2016], przy czym reakcja roślin na działanie danego czynnika zależy od jego stężenia i jest często specyficzna dla każdego gatunku. W przypadku stewii wykazano korzystny wpływ stosowanego przedsięwzięcia kwasu giberelinowego, na kiełkowanie nasion w warunkach stresu solnego [Liopa i Tsakalidi 2012]. Istnieje jednak konieczność dalszych badań zmierzających do określenia wpływu regulatorów wzrostu na dalszy wzrost siewek i jakość uzyskanych sadzonek. Wyniki wielu badań sugerują, iż także melatonina (MEL, N-acetylo-5-metoksytryptamina) może działać jako regulator wzrostu roślin [Murch i Saxena 2002, Arnao i Hernandez-Ruiz 2006] oraz jako biostymulator w sytuacjach stresowych [Arnao i Hernandez-Ruiz 2013, Posmyk i in. 2008, Tan i in. 2007, Wei i in. 2015]. Ta wielofunkcyjna molekula została stosunkowo niedawno, bo w latach 90-tych XX wieku, zidentyfikowana w organizmach autotroficznych. Do tej pory wykryto ją u ponad 300 gatunków roślin, zarówno jedno- jak i dwuliściennych [Manchester i in. 2000, Chen i in. 2003, Zohar i in. 2011, Arnao 2014]. Melatoninę wykryto zarówno w korzeniach, łodygach, liściach, kwiatach i owocach, ale także w nasionach [Murch i in. 1997, Nawaz i in. 2016]. Warto zauważyć, że największe jej ilości gromadzone są właśnie w nasionach i owocach [Hattoti i in. 1995, Manchester i in. 2000]. Wiadomo, że głównym miejscem syntezy MEL są chloroplasty [Byeon i in. 2014; Byeon i in. 2015], choć jej synteza w komórkach roślinnych przebiega w sposób zbliżony do syntezy u ssaków, drożdży i bakterii. Jej korzystny wpływ na kiełkowanie nasion wykazano między innymi w przypadku *Brassica oleracea* convar. *capitata* var. *rubra*, *Cucumis sativus* i *Phacelia tanacetifolia* [Posmyk i in. 2008, Posmyk i in. 2009, Tiryaki i Keles 2012]. Wykazano ponadto, że MEL zastosowana na etapie kiełkowania wpływa na dalszy wzrost roślin [Wei i in. 2015, Hernandez-Ruiz i in. 2004, Hernandez-Ruiz i in. 2005, Hernandez-Ruiz i Arnao

2008, Arnao i Hernandez-Ruiz 2007, Zhang i in. 2013, Park i Back 2013, Sarrou i in. 2014, Chen i in. 2009]. Badania wskazują także, że MEL opóźnia procesy starzenia się, blokując degradację chlorofilu [Arnao i Hernandez-Ruiz 2009, Wang i in. 2012, Zhang i in. 2006, Zhang i in. 2017], co może być konsekwencją represji genów kodujących enzymy odpowiedzialne za degradację tych barwników [Wang i in. 2013, Weeda i in. 2014, Zhang i in. 2016]. Ponadto, poprzez ochronę barwników chlorofilowych w warunkach stresu, MEL poprawia wydajność fotosyntezy. Egzogenna MEL zwiększa także aktywność enzymów antyoksydacyjnych [Rodriguez i in. 2004, Bałabusta i in. 2016, Wang i in. 2016, Zhang i in. 2006, Wang i in. 2018], takich jak katalaza (CAT, EC 1.11.1.6), peroksydaza (POD, EC 1.11.1.7) oraz dysmutaza ponadtlenkowa (SOD, EC 1.15.1.1), które jak wiadomo odgrywają kluczową rolę w eliminacji ROS (ang. *reactive oxygen species*). Ze względu na korzystny wpływ melatoniny na kiełkowanie nasion jak i jej ochronne działanie na rośliny, postanowiliśmy wykorzystać w naszych badaniach także ten regulator. Do tej pory dla stewii badania takie nie były prowadzone.

Głównym celem cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowiących niniejsze osiągnięcie naukowe było opracowanie efektywnego sposobu zwiększenia kiełkowalności nasion stewii przy zapewnieniu dobrej jakości otrzymanych sadzonek. Badania prowadzono w warunkach *in vitro*, a realizacja założonego celu obejmowała określenie wpływu:

- czynników fizycznych: temperatury, światła, typu podłoża oraz
- regulatorów wzrostu: kwasu giberelinowego (GA₃), kinetyny (KN), 6-benzyladeniny (BA), tidiazuronu (TDZ) i melatoniny (MEL)

na kiełkowanie nasion i jakość uzyskanych sadzonek stewii.

Do badań wykorzystano nasiona pochodzące z polskich firm hodowlano-nasiennych tj. Krakowska Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze POLAN Spółka z o.o. oraz W. Legutko Przedsiębiorstwo Hodowlano-Nasienne Sp. z o.o.

OMÓWIENIE OTRZYMANYCH WYNIKÓW

Doświadczenia realizowane w ramach osiągnięcia naukowego były zakładane z wykorzystaniem świeżej partii nasion, gdyż nasiona stewii szybko tracą żywotność i nie zaleca się ich długiego przechowywania. Do momentu założenia doświadczeń nasiona przechowywano w temperaturze +4 °C, a czas przechowywania z reguły nie przekraczał trzech miesięcy. Przed założeniem każdego doświadczenia, dla losowo wybranej próby 100 nasion weryfikowano żywotność z zastosowaniem testu tetrazolinowego. Dla nasion wykorzystywanych do doświadczeń badany parametr mieścił się w przedziale 70-90%. Bezpośrednio przed założeniem doświadczeń, nasiona odkażano z zastosowaniem Domestosu. Kiełkowanie prowadzono w zamkniętych, sterylnych szalkach Petriego na bibule lub żelu agarowym, w zależności od doświadczenia. Wzrost otrzymanych siewek odbywał się na pożywce stałej według Murashige i Skoog (MS, 1962) Doświadczenia prowadzono w warunkach kontrolowanych w komorach klimatycznych: MCA 1600 (Snijders Scientific) oraz Adaptis-A1000TC (Convion).

W pierwszym doświadczeniu opisanym w publikacji **B1** badano wpływ światła, temperatury i podłoża na kiełkowalność nasion stewii oraz jakość uzyskanych sadzonek. Testowano trzy warianty światła LED: czerwone, niebieskie i mieszane (białe i czerwone; 1:1) oraz światło fluorescencyjne białe. Nasiona kiełkowano także w ciemności. W doświadczeniu testowano też dwa warianty temperatury: 20 i 25 °C oraz dwa warianty podłoża: bibuła filtracyjna i podłoże agarowe (AG). W warunkach prezentowanego doświadczenia, przetestowano wszystkie trzy czynniki (światło,

temperatura, podłoże) w odpowiednich kombinacjach: testowano wszystkie warunki świetlne, w każdej z dwóch temperatur i dla obu typów podłoża do kiełkowania. Przeprowadzone doświadczenie wykazało, że spośród przetestowanych typów światła LED, niebieskie zdecydowanie najkorzystniej wpływało na kiełkowalność nasion stewii, z kolei najmniej korzystny wpływ obserwowano dla światła czerwonego. Natomiast niezależnie od temperatury i podłoża najmniej nasion kiełkowało w ciemności, co dowodzi, że stewia jest gatunkiem fotoblastycznie dodatnim - światło stymuluje jej kiełkowanie. Z kolei analizując wpływ temperatury, dla wszystkich wariantów światła zaobserwowano więcej wykiełkowanych nasion w temperaturze 25 °C niż 20 °C, co było szczególnie widoczne dla nasion kiełkujących na podłożu agarowym. Podłoże to okazało się lepsze dla nasion stewii niż bibuła filtracyjna, co było widoczne nie tylko w procencie wykiełkowanych nasion, ale także w tempie kiełkowania. W warunkach prezentowanego doświadczenia zaobserwowano także, że światło i temperatura mają wpływ na wzrost siewek stewii. Sadzonki otrzymane w warunkach światła niebieskiego miały krótsze łodygi i korzenie, co było szczególnie widoczne w 20 °C, jednakże w obu temperaturach formowały one więcej liści w porównaniu do roślin otrzymanych w innych wariantach światła. W prezentowanym doświadczeniu wykazano także, iż ekspozycja stewii na światło czerwone niezależnie od temperatury, miała korzystny wpływ na przyrost łodygi na długość, choć w dużej mierze wynikało to z wydłużania międzywęzła i nie przekładało się na liczbę wytwarzanych liści. Także niezależnie od temperatury, przy świetle LED czerwonym rośliny formowały najdłuższe korzenie. Wykonane w ramach prezentowanych badań zdjęcia z elektronowego mikroskopu skaningowego pozwoliły na obserwacje aparatów szparkowych liści stewii. Na uzyskanych obrazach obserwowano zwiększenie liczby aparatów szparkowych pod wpływem światła LED niebieskiego. Z kolei najmniej aparatów szparkowych odnotowano na liściach roślin wzrastających przy świetle LED czerwonym, niezależnie od temperatury wzrostu roślin. Zauważono ponadto, że światło niebieskie w przeciwieństwie do światła czerwonego miało korzystny wpływ na otwieranie aparatów szparkowych. Z kolei przeprowadzone analizy fitochemiczne wykazały, że wszystkie testowane warianty światła LED hamowały syntezę chlorofili w porównaniu z fluorescencyjnym światłem białym. Zauważono przy tym, że pod wpływem światła niebieskiego zawartość analizowanych barwników fotosyntetycznych była wyższa w porównaniu do światła czerwonego. Światło LED niebieskie i mieszane stymulowało syntezę karotenoidów, w przeciwieństwie do światła LED czerwonego, które obniżało zawartość tych barwników, także w porównaniu do światła fluorescencyjnego białego. Wiele badań z zastosowaniem roślinnych kultur *in vitro* wskazuje, na silną odpowiedź stresową roślin w tych warunkach. Ponieważ w naszym doświadczeniu kiełkowanie i wzrost siewek odbywały się w warunkach *in vitro* z udziałem światła LED, postanowiliśmy także sprawdzić poziom standardowych markerów stresu oksydacyjnego, do których należą m.in. cukry rozpuszczalne, fenole i enzymy antyoksydacyjne. W warunkach opisanego doświadczenia (kiełkowanie przez 21 dni, wzrost siewek przez 4 tygodnie) nie obserwowano istotnego wpływu światła LED na stężenie cukrów rozpuszczalnych w roślinach stewii, choć największą zawartość tych związków zanotowano pod wpływem światła niebieskiego. Także najwyższe stężenie fenoli stwierdzono w roślinach wzrastających w świetle LED niebieskim oraz w ciemności, zaś najniższe w świetle LED czerwonym. Ponadto analizy enzymatyczne wykazały zwiększoną aktywność CAT i POD pod wpływem światła LED niebieskiego. Z kolei obniżenie ich aktywności zaobserwowano pod wpływem światła LED czerwonego. Zupełnie odwrotne zależności zaobserwowano dla aktywności SOD. W prezentowanym doświadczeniu wykazano, że najkorzystniej na kiełkowanie nasion stewii wpływa światło LED niebieskie, temperatura 25 °C i podłoże agarowe, co przekładało się także na dobrą

jakość uzyskanych sadzonek. W kolejnych doświadczeniach opisanych w publikacjach **B2**, **B3** i **B4** wchodzących w skład niniejszego opracowania stosowano właśnie tę temperaturę i ten rodzaj podłoża, zaś do oświetlenia wybrano kontrolne światło fluorescencyjne białe.

W doświadczeniu opisanym w publikacji **B2** badano wpływ egzogennych regulatorów wzrostu na kiełkowanie i wzrost siewek stewii. Do testowania wybrano GA_3 , KN, BA i TDZ, przy czym każdy z regulatorów testowany był w stężeniach: 1, 10 i 100 μM . Kontrolę stanowiły nasiona kiełkujące na pożywce bez dodatku regulatorów wzrostu. W warunkach tego doświadczenia najkorzystniej na kiełkowanie wpływał kwas giberelinowy (GA_3) w stężeniu 1 μM . Pod wpływem tego stężenia wykiełkowało 84% nasion, czyli 15% więcej w porównaniu do kontroli. Wyższe stężenia GA_3 wpływały jednak niekorzystnie na kiełkowanie. Także tidiazuron (TDZ) w stężeniu 1 μM wykazywał pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion stewii, choć w porównaniu z kontrolą różnica nie była znacząca. Z kolei kinetyna (KN) w żadnym z zastosowanych stężeń nie skutkowała zwiększeniem kiełkowania nasion w porównaniu do kontroli, a najmniej korzystny wpływ na kiełkowanie stewii miała 6-benzyloadenina (BA) w stężeniach 10 μM i 100 μM . Generalnie dla wszystkich regulatorów wzrostu użytych w prezentowanym doświadczeniu obserwowano ujemną korelację między stężeniem, a odsetkiem kiełkujących nasion, przy czym najwyższe współczynniki korelacji zaobserwowano dla GA_3 i KN ($r = -0,75$). Zastosowanie regulatorów wzrostu na etapie kiełkowania, miało także wpływ na dalszy rozwój siewek. Najkorzystniejsza dla większości analizowanych parametrów morfologicznych uzyskanych sadzonek okazała się być KN w stężeniu 10 μM . Otrzymane w tych warunkach sadzonki były nie tylko prawie dwukrotnie wyższe od kontrolnych, ale miały także większą świeżą masę, liczbę międzywęźli, liczbę liści i długość korzeni. Odnotowane dla KN wartości były także większe w porównaniu z innymi regulatorami. Natomiast TDZ w stężeniu 100 μM miał najbardziej niekorzystny wpływ na wzrost sadzonek, które wykazywały deformacje i przypominały wieloroślinki, bez wyraźnie uformowanych pędów. Ponadto u podstawy pędów obserwowano tworzenie kalusa. Z kolei najkorzystniejszy dla kiełkowania GA_3 w stężeniu 1 μM skutkowało nieznacznym zwiększeniem długości łodygi i międzywęźli, ale przyrosty te nie były istotnie różne od tych obserwowanych w warunkach kontrolnych. Podobnie jak w przypadku kiełkowania, także dla badanych cech morfologicznych obserwowano ujemną korelację ze stężeniem regulatora, a obliczony współczynnik korelacji wahał się od -0,49 do -1,00. Zastosowane na etapie kiełkowania regulatory miały także wpływ na właściwości fitochemiczne roślin stewii. Kwas giberelinowy stymulował biosyntezę karotenoidów, natomiast hamował powstawanie chlorofilu *a* i *b*. Z kolei TDZ w najwyższym testowanym stężeniu (100 μM) wyraźnie obniżał zawartość wszystkich barwników, zaś jego niższe stężenia stymulowały syntezę karotenoidów. Kinetyna i 6-benzyloadenina podobnie wpływały na zawartość wszystkich barwników, choć jedynie pod wpływem 100 μM BA obserwowana zawartość chlorofilu była istotnie wyższa w porównaniu z kontrolą. W zależności od regulatora i stężenia, odnotowano także zróżnicowane aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Aktywność CAT była istotnie wyższa od kontroli w przypadku zastosowania GA_3 w stężeniu 100 μM oraz TDZ i KN w stężeniach 1 i 10 μM . Z kolei istotnie niższą od kontroli aktywność tego enzymu obserwowano pod wpływem 1 μM GA_3 . Analizując dane dla POD zaobserwowano spektakularny, bo ponad 3-krotny, wzrost aktywności pod wpływem najwyższego testowanego stężenia TDZ. Z kolei w przypadku KN i BA niższe stężenia zwiększały aktywność tego enzymu, zaś stężenie 100 μM BA istotnie obniżało jego aktywność. W przypadku SOD, wszystkie testowane stężenia GA_3 , KN i BA wpływały na zwiększenie aktywności tego enzymu w relacji odwrotnej do stężenia stosowanego regulatora. Natomiast po zastosowaniu TDZ, tylko w najwyższym jego stężeniu obserwowano zwiększenie aktywności badanego enzymu.

W kolejnych dwóch publikacjach - **B3** i **B4** - wchodzących w skład niniejszego opracowania opisano wpływ melatoniny (MEL) na kiełkowanie i wzrost siewek stewii. W badaniach z publikacji **B3** podłoże do kiełkowania stanowił wytypowany w toku wcześniejszej pracy (**B1**) żel agarowy (AG) zawierający różne stężenia MEL: 5, 20, 100 i 500 μM . Podłoże agarowe bez MEL stanowiło kontrolę. Ze względu na to, że melatonina ulega rozkładowi pod wpływem światła, szalki z nasionami przetrzymywano w ciemności (24 lub 48 godzin). Nasiona bez tej wstępnej inkubacji stanowiły kontrolę (w publikacji **B1** wykazaliśmy, że stewia jest gatunkiem fotoblastycznie dodatnim). Wyniki uzyskane w publikacji **B3** wskazują, że najkorzystniejszy wpływ na kiełkowanie nasion stewii miała MEL w stężeniach 20 i 5 μM , przy czym efekt ten obserwowano tylko w nasionach wstępnie inkubowanych w ciemności przez 24 h. Z kolei zastosowanie wysokich stężeń MEL (100 i 500 μM) obniżało zdolność kiełkowania nasion stewii we wszystkich trzech wariantach czasowych wstępnej inkubacji. Ocena roślin potwierdziła korzystny wpływ MEL w stężeniu 20 μM na wzrost siewek. Sadzonki rosnące w takich warunkach miały średnio największą świeżą masę i wytwarzały najwięcej liści. Z kolei MEL w stężeniu 5 μM korzystnie wpływała na wysokość roślin, choć wynikało to głównie ze zwiększenia odległości między kolejnymi węzłami na pędach. Analizy fitochemiczne wykazały korzystny wpływ MEL na zawartość barwników chlorofilowych i karotenoidów, przy czym efekt ten był najlepiej widoczny dla 5 μM MEL. Z kolei zawartości cukrów i fenoli zwiększały się wraz ze zwiększeniem stężenia MEL i dla większości analizowanych przypadków były wyższe od kontroli. Melatonina wpływała także na aktywność enzymów antyoksydacyjnych, przy czym najwyższą aktywność CAT wykazano w roślinach uzyskanych z nasion kiełkujących na podłożu agarowym wzbogaconym w 500 μM MEL. Warto także zauważyć, że pozostałe stężenia MEL obniżyły aktywność tego enzymu, a najniższy jej poziom zaobserwowano, gdy na etapie kiełkowania zastosowano MEL w stężeniu 20 μM . Z kolei wraz ze wzrostem stężenia MEL obserwowano wzrost aktywności POD. Tendencji tej nie podlegało jedynie stężenie 20 μM , przy którym odnotowana aktywność enzymu była najniższa w porównaniu z innymi stężeniami MEL. Zupełnie odwrotnie przedstawiała się sytuacja w przypadku SOD. Melatonina niezależnie od stosowanego stężenia obniżała aktywność tego enzymu, przy czym 5 i 20 μM były stężeniami, dla których różnica względem kontroli była najmniejsza.

W badaniach z wchodzącej w skład niniejszego opracowania z publikacji **B4**, MEL zastosowano w postaci wodnych roztworów o takich samych stężeniach, jak opisane w publikacji **B3**. Nasiona stewii przed wyłożeniem na szalki Petriego inkubowano w tych roztworach przez 24 godziny, w ciemności (czas inkubacji nasion ustalono na podstawie wyników opisanych w publikacji **B3**). Przeprowadzone doświadczenie wykazało, iż najlepszy wpływ na kiełkowanie ma inkubacja nasion w roztworze MEL o stężeniu 5 μM . W tych warunkach odnotowano około 1,3 razy więcej wykiełkowanych nasion w porównaniu do kontroli. Zaobserwowano także obniżenie kiełkowania wraz ze wzrostem stężenia MEL w roztworze. Dodatkowo w ramach badań opisanych w publikacji **B4** analizowano wpływ MEL na kiełkowanie nasion stewii w warunkach stresu solnego. Dla określenia wrażliwości nasion stewii na zasolenie, podłoże do kiełkowania stanowił żel agarowy (AG) zawierający różne stężenia NaCl: 0, 50, 100, 150 i 200 mM. Doświadczenie to wykazało, że stewia jest gatunkiem wrażliwym i zwiększanie stężenia NaCl skutkuje istotnym obniżeniem kiełkowania nasion. Na podstawie tego doświadczenia wybrano do kolejnego etapu badań dwa stężenia NaCl - 50 i 150 mM. W tym etapie badań nasiona inkubowano (24 h) w wodnych roztworach MEL i kiełkowano na podłożu zawierającym 50 lub 150 mM NaCl. Uzyskane w tych warunkach wyniki wskazują, że przy niższym zasoleniu (50 mM NaCl) wszystkie stężenia MEL poprawiają kiełkowanie, przy czym najkorzystniejszy wpływ odnotowano dla MEL w stężeniach 20 i 5 μM . Jednak w warunkach wyższego

zasolenia (150 mM NaCl) nasiona inkubowane w MEL kiełkowały na poziomie niższym niż kontrola. Ponadto zaobserwowano pogłębienie się tego negatywnego wpływu wraz ze wzrostem stężenia MEL. Po czterech tygodniach wzrostu rośliny otrzymane z nasion inkubowanych w MEL i kiełkujących na podłożu bez dodatku NaCl oraz na podłożu z dodatkiem 50 i 150 mM NaCl oceniono pod względem parametrów morfologicznych. Przeprowadzona ocena wykazała, że MEL korzystnie wpływała na wzrost siewek, co miało odzwierciedlenie zarówno w masie uzyskanych sadzonek jak i w ich wielkości. Podobnie, jak w eksperymentach z publikacji **B3**, także tutaj najwyższe stężenie MEL korzystnie wpływało tylko na rozwój systemu korzeniowego. Nie odnotowano jednak pozytywnego wpływu MEL na rozwój siewek otrzymanych z nasion kiełkujących w obecności soli. Co więcej – w tych warunkach obserwowano pogorszenie parametrów morfologicznych wraz ze wzrostem stężenia MEL. Ponadto istotny wpływ na rozwój siewek miało samo stężenie NaCl w podłożu. W zasadzie niewiele siewek otrzymanych z nasion kiełkujących na podłożu w obecności 150 mM NaCl podjęło dalszy wzrost, a te, które przeżyły przekształciły się w rośliny o niewielkich rozmiarach i nie nadawały się do oceny parametrów morfologicznych. Z tego względu roślin tych nie użyto też w kolejnym etapie prac, w którym badano zawartość glikozydów stewiolowych i ekspresję genów uczestniczących w ich biosyntezie. Analizy te miały na celu określić, czy MEL zastosowana na etapie kiełkowania może regulować procesy metaboliczne w dojrzałych roślinach. Liście do analiz pobierano z roślin, które wzrastały w komorze wegetacyjnej (A1000PG, Conviron) przez około 6 miesięcy po aklimatyzacji z warunków *in vitro*. Analizy HPLC wykazały, że niezależnie od zastosowanego stężenia melatonina wpływa korzystnie na biosyntezę stewiozydu i rebaudiozydu A, co szczególnie dobrze było widoczne w liściach starszych. Najwyższe ilości stewiozydu wykryto w roślinach otrzymanych z nasion inkubowanych w 5 μ M MEL, z kolei rebaudiozydu A było najwięcej w roślinach otrzymanych z nasion inkubowanych w 20 μ M MEL. Podobne zależności obserwowano dla roślin otrzymanych z nasion kiełkujących na podłożu z dodatkiem 50 mM NaCl. Próby liści wykorzystywane do analiz HPLC oraz nasiona bezpośrednio po inkubacji w wodnych roztworach MEL zostały użyte w analizach RT-PCR i real-time RT-PCR do oceny ekspresji genów szlaku biosyntezy glikozydów stewiolowych. W nasionach wykazano obecność transkryptów wszystkich genów szlaku biosyntezy glikozydów stewiolowych z wyjątkiem *GGDPS*. Analizy real-time RT-PCR wykazały zaś, że melatonina może regulować ekspresję tych genów, choć dla większości z nich była ona obniżona w stosunku do nasion nietraktowanych MEL. Z kolei analizy wykonane dla liści stewii wykazały dla większości genów wyższy poziom ekspresji w liściach młodszych w porównaniu do starszych. Zauważono też, że w przypadku stosowania MEL oznaczone wartości ekspresji były wyższe niż w liściach roślin kontrolnych. Dla zwiększenia ekspresji genów zaangażowanych we wcześniejsze etapy biosyntezy przebiegające w plastydach, korzystniejsze były niższe stężenia MEL: 5 i 20 μ M lub tylko jedno z nich, co pokrywa się z oznaczoną zawartością stewiozydu i rebaudiozydu A. Natomiast dla genów kodujących UDP-glikozylotransferazy obserwowano zróżnicowaną ekspresję, przy czym *UGT74G1* (biorący udział w przekształceniu stewiolbiozydu do stewiozydu) ulegał istotnie najsilniejszej ekspresji w liściach młodszych i starszych u roślin otrzymanych z nasion traktowanych MEL w stężeniu 5 μ M. Z kolei *UGT76G1* (zaangażowany w przekształcenie stewiozydu do rebaudiozydu A) był najsilniej transkrybowany w liściach starszych u roślin otrzymanych z nasion traktowanych MEL w stężeniu 20 μ M.

PODSUMOWANIE NAJWAŻNIEJSZYCH OSIĄGNIĘĆ

Badania przeprowadzone w ramach osiągnięcia naukowego dostarczają nowych informacji dotyczących optymalizacji kiełkowania nasion *Stevia rebaudiana* Bertoni. Istotnym osiągnięciem omówionych badań jest wykazanie możliwości poprawy kiełkowania nasion stewii poprzez zastosowanie oświetlenia LED niebieskiego oraz suplementacji podłoża do kiełkowania w regulatory wzrostu. Jednym z obiecujących w tym aspekcie regulatorów okazała się być melatonina. U roślin związek ten zidentyfikowano stosunkowo niedawno i jego działanie w tych organizmach jest wciąż słabo poznane. W ramach badań stanowiących osiągnięcie naukowe wykazaliśmy też długoterminowy wpływ melatoniny na rośliny stewii – konkretnie na zawartość glikozydów stewiolowych oraz ekspresję genów uczestniczących ich biosyntezie. W badaniach składających się na niniejsze osiągnięcie naukowe światło LED i melatonina zostały po raz pierwszy wykorzystane do poprawy kiełkowania nasion stewii. Po raz pierwszy oceniliśmy też ich wpływ jak również wpływ innych testowanych czynników na wzrost siewek i jakość uzyskanych sadzonek.

Najważniejsze wnioski płynące z badań opisanych w ramach osiągnięcia naukowego:

1. Możliwa jest poprawa kiełkowania nasion stewii dzięki zastosowaniu określonych czynników fizycznych i regulatorów wzrostu.
2. Optymalne warunki do kiełkowania nasion stewii *in vitro* stwarza podłoże agarowe i temperatura 25 °C.
3. Zastosowanie niebieskiego światła LED poprawia kiełkowanie oraz jakość uzyskanych roślin.
4. Kwas giberelinowy 3 (GA₃) jest skutecznym stymulatorem kiełkowania nasion stewii. Z kolei dla rozwoju siewek najkorzystniejszy wpływ wykazywała kinetyna. Korzystny wpływ obu regulatorów obserwowano tylko w przypadku stosowania ich w niskim stężeniu (1 μM).
5. Niezależnie od sposobu aplikacji melatonina w stężeniach 5 i 20 μM poprawia kiełkowanie nasion stewii podczas gdy wyższe stężenia wpływają negatywnie na ten proces.
6. Stewia jest gatunkiem wrażliwym na zasolenie, ale przy niskim stężeniu NaCl w podłożu melatonina może poprawić kiełkowanie.
7. Zastosowanie melatoniny na etapie kiełkowania wpływa na akumulację glikozydów stewiolowych w liściach stewii, przy czym na zawartość stewiozydu najkorzystniej wpływała melatonina w stężeniu 5 μM, a na zawartość rebaudiozydu A w stężeniu 20 μM.
8. Koncentracja glikozydów stewiolowych w liściach stewii zależy od ich fazy rozwoju. W starszych liściach odnotowano wyższą akumulację stewiozydu i rebaudiozydu A w porównaniu do liści młodszych.
9. Akumulacja transkryptów genów zaangażowanych w szlak biosyntezy glikozydów stewiolowych była wyższa w liściach młodszych w porównaniu do starszych.
10. Biosynteza glikozydów stewiolowych może zachodzić już w nasionach - wskazuje na to obecność w nasionach transkryptów genów zaangażowanych w ten proces.

Literatura

- Abdullateef R.A., Osman M. 2011. Effects of visible light wavelengths on seed germinability in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Int J Biol* 3: 83-91
- Akram M., Aftab F. 2015. Effect of cytokinins on *in vitro* seed germination and changes in chlorophyll and soluble protein contents of teak (*Tectona grandis* L.). *Biochem Physiol* 4: 166
- Angelini L.G., Martini A., Passera B., Tavarini S. 2018. Cultivation of *Stevia rebaudiana* Bertoni and associated challenges. [W]: Sweeteners. Reference Series in Phytochemistry. [Ed] Mérillon J.M., Ramawat K. Springer, Cham

- Arnao M.B, Hernandez-Ruiz J. 2006. The physiological function of melatonin in plants. *Plant Signal Behav* 1: 89-95
- Arnao M.B. 2014. Phytomelatonin: discovery, content, and role in plants. *Adv Botany* 815769
- Arnao M.B., Hernandez-Ruiz J. 2007. Melatonin promotes adventitious- and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus* L. *J Pineal Res* 42: 147-152
- Arnao M.B., Hernandez-Ruiz J. 2009. Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves. *J Pineal Res* 46: 58-63
- Arnao M.B., Hernandez-Ruiz J. 2013. Growth conditions determine different melatonin levels in *Lupinus albus* L. *J Pineal Res* 55: 149-155
- Arya A., Kumar S., Kasana M.S. 2012. Anti-inflammatory activity of in vitro regenerated calli and in vivo plant of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *J Sci Ind Res* 2: 1-5
- Atteh J., Onagbesan O., Tona K., Buyse J., Decuypere E., Geuns J. 2011. Potential use of *Stevia rebaudiana* in animal feeds. *Arch de Zootec* 60(229): 133-6
- Baĳabusta M., Szafrńska K., Posmyk M.M. 2016. Exogenous melatonin improves antioxidant defense in cucumber seeds (*Cucumis sativus* L.) germinated under chilling stress. *Front Plant Sci* 7: 575
- Bewley J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055–1066
- Bewley J.D., Black M. 2012. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination: Volume 2: Viability, Dormancy, and Environmental Control. Springer Science & Business Media, 155
- Borgo J., Laurella L.C., Martini F., Catalán C.A.N., Sülsen V.P. 2021. *Stevia* Genus: Phytochemistry and biological activities update. *Molecules* 26(9): 2733
- Brandle J.E., Starratt A.N., Gijen M. 1998 *Stevia rebaudiana*: Its agricultural, biological and chemical properties. *Canadian J Plant Sci* 78: 527-536
- Brandle J.E., Telmer P.G. 2007. Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry* 68(14): 1855-1863
- Bula R.J., Morrow R.C., Tibbitts T.W., Barta D.J., Ignatius R.W., Martin T.S., 1991. Light-emitting diodes as a radiation source for plants. *HortScience* 26, 203-205
- Byeon Y., Lee H.Y., Choi D-W., Back K. 2015. Chloroplast-encoded serotonin N-acetyltransferase in the red alga *Pyropia yezoensis*: gene transition to the nucleus from chloroplasts. *J Exp Bot* 66: 709-717
- Byeon Y., Lee H.Y., Lee K., Park S., Back K. 2014. Cellular localization and kinetics of the rice melatonin biosynthetic enzymes SNAT and ASMT. *J Pineal Res* 56: 107-114
- Ceunen S., Geuns J.M.C. 2013. Steviol glycosides: chemical diversity, metabolism, and function. *J Nat Prod* 76: 1201-1228
- Chaturvedula V.S., Prakash I. 2011a. Structures of the novel diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Carbohydr Res* 346: 1057-1060
- Chaturvedula V.S., Prakash I. 2011b. Additional minor diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Nat Prod Commun* 6: 1059-1062
- Chaturvedula V.S., Rhea J., Milanowski D., Mocek U., Prakash I. 2011. Two minor diterpene glycosides from the leaves of *Stevia rebaudiana*. *Nat Prod Commun* 6: 175-178
- Chen G., Huo Y., Tan D.X., Liang Z., Zhang W., Zhang Y. 2003. Melatonin in Chinese medicinal herbs. *Life Sci* 73: 19-26
- Chen H., Cao M., Baskin J.M., Baskin C.C. 2013. Temperature regulates positively photoblastic seed germination in four *Ficus* (*Moraceae*) tree species from contrasting habitats in a seasonal tropical rainforest. *Am J Bot* 100: 1683-1687
- Chen J., Xia Y., Sui X., Peng Q., Zhang T., Li J., Zhang J. 2018. Steviol, a natural product inhibits proliferation of the gastrointestinal cancer cells intensively. *Oncotarget* 9: 26299-26308
- Chen Q., Qi W.B., Reiter R.J., Wei W., Wang B.M. 2009. Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea*. *J Plant Physiol* 166: 324-328
- Chiwocha S.D.S., Cutlter A.J., Abrams S.R., Ambrose S.J., Yang J., Ross A.R., Kermod A.R. 2005. The *etr1-2* mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist-chilling and germination. *Plant J* 42: 35-48
- Colombus M. 1997. The cultivation of stevia, "nature's sweetener". Ontario Ministry of Agriculture. Food and Rural Affairs, Toronto, ON. p. 4
- Dechaine J.M., Gardner G., Weing C. 2009. Phytochromes differentially regulate seed germination responses to light quality and temperature cues during seed maturation. *Plant Cell Environ* 32: 1297-1309

- Dissanayaka N.P., Kodikara K.A.S., Vithanage D.S., Krishnarajah S.A., Rubasinghe M.K., Dayananda T.G. 2015. Effects of 6-benzylaminopurine (BAP) treatment on seed germination and seedling vigour of endemic herb *Exacum trinervium* L. in Sri Lanka: conservation strategy. *J Univ Ruhuna* 1: 14-20
- European Food Safety Authority. 2011. Revised exposure assessment for steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. *EFSA Journal* 9: 1972
- Gamboa F., Chaves M. 2012. Antimicrobial potential of ex-tracts from *Stevia rebaudiana* leaves against bacteria of importance in dental caries. *Acta Odontol Latinoam.* 25: 171-175
- Ghanta S., Banerjee A., Poddar A., Chattopadhyay S. 2007. Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, a natural sweetener. *J Agric Food Chem* 55: 10962-10967
- Goyal S.K, Samsher, Goyal R.K. 2010. *Stevia (Stevia rebaudiana)* a bio-sweetener: a review. *Int J Food Sci Nutr* 61(1): 1-10
- Hattori A., Migitaka H., Iigo M., Itoh M., Yamamoto K., Ohtani-Kaneko R., Hara M., Suzuki T., Reiter R.J. 1995. Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *Biochem Mol Biol Int* 35: 627-634
- Hernandez-Ruiz J., Arnao M.B. 2008. Melatonin stimulates the expansion of etiolated lupin cotyledons. *Plant Growth Regul* 55: 29-34
- Hernandez-Ruiz J., Cano A., Arnao M.B. 2004. Melatonin: a growth-stimulating compound present in lupin tissues. *Planta* 220: 140-144
- Hernandez-Ruiz J., Cano A., Arnao M.B. 2005. Melatonin acts as a growth-stimulating compound in some monocot species. *J Pineal Res* 39: 137-142
- Heschel M.S., Selby J., Butler C., Whitelam G.C., Sharrock R.A., Donohue K. 2007. A new role for phytochromes in temperature-dependent germination. *New Phytol* 174, 735-741
- Jeong Y., Lee H.J., Jin G.H., Park Y.D., Choi D.S., Kang M.A. 2010. Anti-inflammatory activity of *Stevia rebaudiana* in LPS-induced RAW 264.7 cells. *J Food Sci Nutr* 15: 14-8
- Kedik S.A., Yartsev E.I., Stanishevskaya I.E. 2009. Antiviral activity of dried extract of *Stevia*. *Pharm Chem J* 43: 198-199
- Kinghorn A.D. 2002. *Stevia: The Genus Stevia*. Taylor and Francis. Londyn EC4P 4EE
- Kumar R., Sharma S. 2012. Effect of light and temperature on seed germination of important medicinal and aromatic plants in north western Himalayas. *Int J Med Arom Plants* 2: 468-475
- Libik-Konieczny M., Capecka E., Tuleja M., Konieczny R. 2021. Synthesis and production of steviol glycosides: recent research trends and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol* 105: 3883–3900
- Liopa-Tsakalidi A., Kaspiris G., Salahas G., Barouchas P. 2012. Effect of SA and GA3 pre-soaking on seed germination of stevia (*Stevia rebaudiana*) under salt stress. *J Med Plants Res* 6: 416-423
- Manchester L.C., Tan D.X., Reiter R.J., Park W., Monis K., Qi W. 2000. High levels of melatonin in the seeds of edible plants. Possible function in germ tissue protection. *Life Sci* 67: 3023-3029
- Manchester L.C., Tan D.X., Reiter R.J., Park W., Monis K., Qi W. 2000. High levels of melatonin in the seeds of edible plants: possible function in germ tissue protection. *Life Sci* 67: 3023-3029
- Marutirao S.B. 2016. Physiological effect of seed treatments with kinetin on seedling growth under laboratory and field conditions in Green gram. *Int J Appl Res* 2: 384-387
- Massa G.D., Kim H.H., Wheeler R.M., Mitchell C.A. 2008. Plant productivity in response to LED lighting. *HortScience* 43: 1951-1956
- Miransari M., Smith D.L. 2014. Plant hormones and seed germination. *Environ Exp Bot* 99: 110-121
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15, 473–497
- Murch S.J., Saxena P.K. 2002. Melatonin: a potential regulator of plant growth and development? *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 38: 531-536
- Murch S.J., Simmons C.B., Saxena P.K. 1997. Melatonin in feverfew and other medicinal plants. *Lancet* 350: 1598-1599
- Nawaz M.A., Huang Y., Bie Z., Ahmed W., Reiter R.J., Niu M., Hameed S. 2016. Melatonin: current status and future perspectives in plant science. *Front Plant Sci* 6: 1230
- Nikolić R., Mitić N., Mietlic R., Nešković M. 2006. Effects of cytokinins on *in vitro* seed germination and early seedling morphogenesis in *Lotus corniculatus* L. *J Plant Growth Regul* 25: 187-194
- Ohta M., Sasa S., Inoue A., Tamai T., Fujita I., Morita K., Matsuura F. 2010. Characterization of novel steviol glycosides from leaves of *Stevia rebaudiana* Morita. *J Appl Glycosci* 57: 199-209

- Pal P.K, Kumar R., Guleria V., Mahajan M., Prasad R., Pathania V., Gill B.S., Singh D., Chand G., Singh B., Singh R.D., Ahuja P.S. 2015. Crop-ecology and nutritional variability influence growth and secondary metabolites of *Stevia rebaudiana* Bertoni. BMC Plant Biol 15: 67
- Park S., Back K. 2013. Melatonin promotes seminal root elongation and root growth in transgenic rice after germination. J Pineal Res 53: 385-389
- Patil J.G., Ahire M.L., Nikam T.D. 2012. Influence of plant growth regulators on *in vitro* seed germination and seedling development of *Digitalis purpurea* L. Asian Australas J Plant Sci Biotechnol 6: 12-18
- Peteliuk V., Rybchuk L., Bayliak M., Storey KB., Lushchak O. 2021. Natural sweetener *Stevia rebaudiana*: Functionalities, health benefits and potential risks. EXCLI Journal 20: 1412-1430
- Posmyk M., Bałabusta M., Wiczorek M., Śliwińska E., Janas K.M. 2009. Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. J Pineal Res 46: 214-223
- Posmyk M.M, Kuran H., Marciniak K., Janas K.M. 2008. Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations. J Pineal Res 45: 24-31
- Preethi D., Sridhar T.M., Josthna P., Naidu C.V. 2011. Studies on antibacterial activity, phytochemical analysis of *Stevia rebaudiana* (Bert.). An important calorie free biosweetener. J Ecobiotech 3(7): 5-10
- Raina R., Bhandari S., Chand R., Sharma Y. 2013. Strategies to improve poor seed germination in *Stevia rebaudiana*, a low calorie sweetener. J Med Plant Res 7: 1793-1799
- Riefler M., Novak O., Strnad M., Schmullig T. 2006. Arabidopsis cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism. Plant Cell 18: 40-54
- Rodriguez C., Mayo J.C., Sainz R.M., Antolín I., Herrera F., Martín V., Reiter R.J. 2004. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. J Pineal Res 36: 1-9
- Sarrou E , Therios I., Dimassi-Theriou K. 2014. Melatonin and other factors that promote rooting and sprouting of shoot cuttings in *Punica granatum* cv. Wonderful. Turk J Botany 38: 293-301
- Sawan Z.M., Mohamed A.A., Sakr R.A., Tarrad A.M. 2000. Effect of kinetin concentration and methods of application on seed germination, yield components, yield and fiber properties of the Egyptian cotton (*Gossypium barbadense*). Environ Exp Bot 44: 59-68
- Shukla S., Mehta A., Mehta P., Bajpai V.K. Antioxidant ability and total phenolic content of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. Exp Toxicol Pathol 64: 807-811
- Soejarto D.D. 2002. Botany of *Stevia* and *Stevia rebaudiana* [W]: *Stevia*: The Genus *Stevia*. [Ed.] Kinghorn A.D. Taylor and Francis. Londyn EC4P 4EE
- Takahashi L., Melges E., Carneiro J.W.P. 1996. Germination performance of seeds of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni under different temperatures. Rev Bras Sementes 18: 6-9
- Takasaki M., Konoshima T., Kozuka M., Tokuda H., Takayasu J., Nishino H., Miyakoshi M., Mizutani K., Lee K-H. 2009. Cancer preventive agents. Part 8: Chemopreventive effects of stevioside and related compounds. Bioorg Med Chem 17: 600-605
- Tan D-X., Manchester L.C., Helton P., Reiter R.J. 2007. Phytoremediative capacity of plants enriched with melatonin. Plant Signal Behav 2: 514-516
- Thokozani B.L.K., Zulu D., Sileshi C.W. Teklehaimanot Z., Gondwe D.S.B., Sarasan V., Stevenson P. 2011. Seed germination and *in vitro* regeneration of the African medicinal and pesticidal plant, *Bobgunnia madagascariensis*. Afr J Biotechnol 10: 5959-5966
- Tiryaki I., Keles H. 2012. Reversal of the inhibitory effect of light and high temperature on germination of *Phacelia tanacetifolia* seeds by melatonin. J Pineal Res 52: 332-339
- Wang L.Y., Liu J.L., Wang W.X., Sun Y. 2016. Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. Photosynthetica 54: 19-27
- Wang P., Sun X., Li C., Wei Z., Liang D., Ma F. 2013. Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. J Pineal Res 54: 292-302
- Wang P., Yin L., Liang D, Li C., Ma F, Yue Z. 2012. Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: toward regulating the ascorbate-glutathione cycle. J Pineal Res 53: 11-20
- Wang Y., Reiter R.J., Chan Z. 2018. Phytomelatonin: a universal abiotic stress regulator. J Exp Bot 69: 963-974
- Weeda S., Zhang N., Zhao X., Ndip G., Guo Y., Buck G.A., Fu C., Ren S. 2014. Arabidopsis transcriptome analysis reveals key roles of melatonin in plant defense systems. PLoS ONE 53: 11-20
- Wei W., Li Q-T., Chu Y-N., Reiter R.J., Yu X.M., Zhu D.H., Zhang W.K., Ma B., Lin Q., Zhang J.S., Chen S.Y. 2015. Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. J Exp Bot 66: 695-707
- Yadav A.K., Singh S., Dhyan D., Ahuja P.S. 2011. A review on the improvement of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]. Can J Plant Sci 91: 1-27

- Zhang J., Li H., Xu B., Li J., Huang B. 2006. Exogenous melatonin suppresses dark induced leaf senescence by activating the superoxide dismutase-catalase antioxidant pathway and down-regulating chlorophyll degradation in excised leaves of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L). *Front Plant Sci* 7: 1500
- Zhang J., Shi Y., Zhang X., Du H., Xu B., Huang B. 2017. Melatonin suppression of heat induced leaf senescence involves changes in abscisic acid and cytokinin biosynthesis and signaling pathways in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Environ Exp Bot* 138: 36-45
- Zhang N., Zhao B., Zhang H-J., Weeda S., Yang C., Yang Z.-C., Ren S., Guo Y.D. 2013. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *J Pineal Res* 54: 15-23
- Zohar R., Izhaki I., Koplovich A., Ben-Shlomo R. 2011. Phytomelatonin in the leaves and fruits of wild perennial plants. *Phytochem Lett* 4: 222-226

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

Aktywność naukowa realizowana we współpracy w ramach osiągnięcia naukowego

Przedstawiony do oceny jednotematyczny cykl publikacji pod tytułem: *Optymalizacja kiełkowania nasion Stevia rebaudiana Bertoni w warunkach in vitro* opisuje badania, które częściowo były wykonywane w ramach współpracy z innymi jednostkami naukowymi. Analizy zawartości barwników fotosyntetycznych, cukrów, fenoli oraz pomiary aktywności enzymów opisane w publikacjach **B1**, **B2** i **B3** wykonałam we współpracy z **Panią prof. dr hab. Edytą Skrzypek** i **Panią dr Marzeną Warchoń** z **Instytutu Fizjologii Roślin PAN w Krakowie**. Z kolei oznaczenia glikozydów stewiolowych, stanowiące część wyników opisanych w publikacji **B4** wykonałam w ramach współpracy z **Panią dr Agnieszką Szewczyk** z **Katedry Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego**.

Aktywność naukowa realizowana we współpracy w ramach innych badań

W toku doświadczeń nad kiełkowaniem stewii zaobserwowałam, iż wokół wyłożonych na podłożu zdezynfekowanych nasion wzrastają bakterie. Zakładałam, że są to bakterie endofityczne, gdyż mimo ich obecności, nasiona kiełkowały i wykształcały zdrowe siewki o prawidłowym wzroście. Obserwacje te skłoniły mnie do podjęcia badań w kierunku identyfikacji tych bakterii i określenia roli, jaką pełnią u stewii. Dla realizacji tych badań podjęłam współpracę między innymi z **Panią dr inż. Anitą Jaglarz** z **Moredun Research Institute (Wielka Brytania)** i z **Panem dr hab. Arturem Gurgulem, prof. URK z Ośrodka Medycyny Eksperymentalnej i Innowacyjnej**. Pragnę zaznaczyć, że w czasie, gdy podejmowałam współpracę z Panem dr hab. A. Gurgulem był on zatrudniony w Instytucie Zootechniki PIB w Balicach. W ramach tej współpracy wyizolowałam z nasion stewii czysty szczep bakterii, który po przeprowadzonej analizie sekwencyjnej genu kodującego 16S rRNA zakwalifikowaliśmy do rodzaju *Pantoea*. W celu identyfikacji gatunku bakterii przeprowadziliśmy sekwencjonowanie jej całego genomu (WGS, *whole genome sequencing*) z zastosowaniem technologii Illumina. Analiza danych genomowych wykazała, że bakteria ta należy to gatunku *Pantoea vagans*. Ciekawym wynikiem było znalezienie w jej genomie genów zaangażowanych w syntezę związków terpenoidowych. Rekord z sekwencjami genomu tej bakterii zamieściliśmy w bazie NCBI (National Center for Biotechnology Information) GenBank pod numerem JAAALG000000000.1. W ramach dalszych badań przeprowadziłam analizy składu biochemicznego zidentyfikowanej bakterii. Analizy te wykonałam we współpracy z **Panią dr Agnieszką Szewczyk (Uniwersytet Jagielloński)** i **Panem dr Michałem Dziurką (Instytut Fizjologii Roślin PAN)**. Uzyskane przez nas wyniki wskazują na zdolność zidentyfikowanej bakterii do biosyntezy glikozydów stewiolowych, gdyż

w ekstrakcie wykazaliśmy obecność rebaudiozydu A. Analizy biochemiczne wskazują także na zdolność wyizolowanego szczepu do biosyntezy regulatorów wzrostu, m.in. auksyn, giberelin, kwasu salicylowego i kwasu jasmonowego. Oczyszczony szczep bakterii wykorzystałam także do inokulacji nasion stewii w celu określenia ich wpływu na kiełkowanie. Wyniki uzyskane w ramach wyżej opisanych badań zostały zaprezentowane na konferencji [Załącznik 4 II 6-P28], a także zostały opisane w manuskrypcie, który przygotowujemy do wysłania do czasopisma International Journal of Molecular Sciences.

Kolejnym tematem badawczym, którym się zajmuję, jest biosynteza alkaloidów Amaryllidaceae w kulturach *in vitro* śnieżycy letniej (*Leucojum aestivum* L). Badania te prowadzi w naszej Katedrze **Pani dr hab. Agata Ptak, prof. URK** we współpracy z **Panią prof. Dominique Laurain-Mattar z Université de Lorraine (Francja)**. Pierwszym zagadnieniem, którego podjęłam się w ramach tej współpracy, była ocena stabilności genetycznej roślin śnieżycy letniej otrzymanych w kulturach *in vitro* na pożywkach stałej oraz płynnej z dodatkiem różnych regulatorów wzrostu. Do oceny zmienności wykorzystałam markery RAPD. Wyniki, jakie uzyskałam w toku realizacji tych badań, zostały zaprezentowane w publikacji [Załącznik 4 II 4-3] oraz w doniesieniach konferencyjnych [Załącznik 4 II 6-P9, P10, P15]. W toku dalszych badań testowaliśmy różne warunki i suplementy kultury dla zoptymalizowania biosyntezy alkaloidów Amaryllidaceae, m.in. bioreaktor okresowo-zalewowy RITA[®], ester metylowy kwasu jasmonowego, kwas salicylowy [Załącznik 4 II 4-6], czy cukry [Załącznik 4 II 4-10, 6-P17]. Moje zainteresowanie melatoniną w kontekście badań nad stewią, skłoniło nas także do sprawdzenia, czy ten związek może mieć wpływ na wzrost śnieżycy letniej, a przede wszystkim na biosyntezę alkaloidów Amaryllidaceae. Uzyskane przez nas wyniki [Załącznik 4 II 4-9] wskazują, że melatonina działa korzystnie nie tylko na wzrost śnieżycy letniej *in vitro*, ale przede wszystkim na biosyntezę galantaminy, której poziom był 58 razy większy w porównaniu do kontroli. Dla śnieżycy wykazaliśmy także neutralizujące działanie melatoniny na negatywny wpływ chlorku sodu. W następstwie wyżej opisanych prac pełniłam rolę wykonawcy w międzynarodowym projekcie badawczym *Rola bakterii endofitycznych w biosyntezie ważnych leczniczo alkaloidów Amaryllidaceae* realizowanym w ramach umowy między Rządami RP i Republiki Francuskiej: Program Działań Zintegrowanych POLONIUM. Kierownikiem projektu ze strony polskiej była **Pani dr hab. Agata Ptak, prof. URK**, zaś ze strony francuskiej **Pani dr Rosella Spina (Université de Lorraine)** [Załącznik 4 II 8-1]. W ramach tego projektu wyjechałam na krótki staż naukowy do **Université de Lorraine**, gdzie w laboratorium **Pani prof. Dominique Laurain-Mattar** przeprowadziłam analizy zawartości alkaloidów Amaryllidaceae w ekstraktach bakterii endofitycznych izolowanych z kultur *in vitro* śnieżycy letniej. Uzyskane wyniki wskazują na potencjał wyizolowanej bakterii do biosyntezy alkaloidów Amaryllidaceae, co stwarza możliwość wykorzystania tej bakterii jako alternatywnego źródła tych ważnych leczniczo metabolitów. Z kolei w ramach współpracy z **Panią dr inż. Anitą Jaglarz z Moredun Research Institute (Wielka Brytania)** i z **Panem dr hab. Arturem Gurgulem, prof. URK z Ośrodka Medycyny Eksperymentalnej i Innowacyjnej** przeprowadziliśmy analizę sekwencji genomu wyizolowanej bakterii. Rekord z sekwencjami został zamieszczony w bazie NCBI pod numerem JAIFIS010000000, a zbiorcze wyniki z badań nad bakterią endofityczną śnieżycy letniej zostały opisane w manuskrypcie, który przygotowujemy do wysłania do czasopisma Scientific Reports. Wyniki tych badań były także prezentowane na konferencji w formie plakatu [Załącznik 4 II 6-P27].

Jeszcze w czasie studiów magisterskich, a potem doktoranckich interesowałam się problemem cytoplazmatycznej męskiej sterylności roślin (CMS). Dlatego chętnie zaangażowałam się w badania z zakresu wykorzystania CMS w hodowli heterozyznej pszenżyta i pszenicy, które od 2016 roku realizuję

we współpracy z **Panem dr hab. Stefanem Stojalowskim, prof. ZUT z Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego**. Badania nad genetycznym podłożem kontroli męskiej sterility u pszenżyta zapoczątkował w naszej Katedrze **Pan prof. dr hab. Ludwik Spiss**, a potem kontynuowała **Pani dr hab. Halina Góral**. Efektem wieloletnich prac badawczych jest wytworzenie czterech genetycznie zróżnicowanych, unikalnych źródeł systemów CMS dla pszenżyta (*cms-Triticum timopheevi*, *cms-Pampa*, *cms-Aegilops sharonensis*, *cms-Aegilops ventricosa*), które potencjalnie można wykorzystać w hodowli odmian mieszańcowych tego gatunku. W ramach badań prowadzonych we współpracy z ZUT badałam interakcje genomu pszenżyta, w różnych cytoplazmach, pod kątem ekspresji cechy męskiej sterility. Prowadziłam też badania, które miały na celu identyfikację form dopełniających dla pszenżyta z różnymi cytoplazmami sterylizującymi. Analogiczne doświadczenia wykonałam także dla pszenicy w systemie *cms-T. timopheevi*. W latach 2016-2018 badania te realizowałam razem z **Panią dr hab. Haliną Góral** i **Panem dr hab. Tomaszem Warzechą, prof. URK** w ramach projektu finansowanego przez MRiRW, którego kierownikiem był dr hab. Stefan Stojalowski, prof. ZUT [Załącznik 4 II 8-12]. W wyniku krzyżowań wypierających wytworzyliśmy kolejne pokolenia męskosterylnych linii pszenżyta z czterema różnymi cytoplazmami sterylizującymi. Uzyskaliśmy także nowe linie męskosterylne pszenżyta, które przynajmniej w jednej z cytoplazm (*Pampa* lub *Ae. sharonensis*) były męskosterylne. Testowaliśmy także rody hodowlane pszenicy pod kątem zdolności do utrzymywania męskiej sterility i przywracania płodności w cytoplazmie *T. timopheevi*. Otrzymane mieszańce zostały przekazane do firmy DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o. (Oddział Łaski), w celu ich wykorzystania z programach hodowli odmian heterozyjnych pszenżyta i pszenicy. W ramach tego projektu podjęłam się także identyfikacji markerów molekularnych (SSR) sprzężonych z loci odpowiedzialnymi za CMS w obrębie dwóch populacji mapujących pszenżyta. Uzyskane w ramach wspólnie prowadzonych badań wyniki, zostały częściowo przedstawione w publikacji [Załącznik 4 II 4-15], w doniesieniach konferencyjnych [Załącznik 4 II 6-R6, R7, P19, P20, P23, P29] oraz w sprawozdaniach ministerialnych. Obecnie kontynuuję podjętą tematykę badawczą, kładąc przede wszystkim nacisk na poznanie molekularnych podstaw zjawiska CMS u pszenżyta i pszenicy oraz mechanizmów warunkujących degenerację pyłku w zależności od źródła genów warunkujących CMS. Moje zainteresowanie cechą CMS skłoniło mnie do zaangażowania się w projekty badawcze podejmujące to zagadnienie u innych gatunków roślin uprawnych. Od roku 2021 jestem wykonawcą w dwóch projektach finansowanych z MRiRW: *Genetyczne podłoże efektu heterozji oraz przywracania męskiej płodności u mieszańców żyta z cytoplazmą Pampa*, którego kierownikiem jest **dr hab. S. Stojalowski, prof. ZUT** oraz *Analiza genetycznej kontroli cechy CMS u marchwi i cebuli oraz cechy samoniezgodności u kapusty*, którego kierownikiem jest **dr hab. Marek Szklarczyk, prof. URK z Katedry Biologii Roślin i Biotechnologii Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa** [Załącznik 4, II 8-13, 14].

Aktywność naukowa realizowana w Katedrze Genetyki, Hodowli i Nasiennictwa - obecnie Katedra Biologii Roślin i Biotechnologii

Będąc jeszcze studentką na Wydziale Ogrodnictwa (obecnie Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa) dla rozszerzenia swoich zainteresowań naukowych wybrałam specjalizację Genetyka i Hodowla Roślin prowadzoną przez **Katedrę Genetyki, Hodowli i Nasiennictwa** (obecnie **Katedra Biologii Roślin i Biotechnologii**). Pierwsze eksperymenty naukowe, w których brałam udział prowadzone były pod kierunkiem **Pana prof. dr hab. Dariusza Grzebelusa** i dotyczyły zastosowania markerów molekularnych do oceny polimorfizmu materiałów hodowlanych marchwi i kapusty.

Częściowo, wyniki tych badań zostały przedstawione w mojej pracy magisterskiej (Badanie zróżnicowania genetycznego w materiałach hodowlanych kapusty głowiastej białej (*Brassica oleracea* var. *capitata*) przy wykorzystaniu techniki RAPD). Po zakończeniu studiów magisterskich, podjęłam studia doktoranckie, gdzie pod kierunkiem **Pani prof. dr hab. Barbary Michalik** rozpoczęłam badania nad odpornością marchwi na połyśnicę marchwiankę. Otrzymane wyniki, przedstawiłam w rozprawie doktorskiej (2004 r.), którą wnioskiem recenzentów i pozostałych członków komisji obroniłam z wyróżnieniem. Wyniki badań zostały także zaprezentowane w doniesieniach konferencyjnych [Załącznik 4 II 6-P1, P2], publikacjach [Załącznik 4 II 4-2, 13] oraz jako rozdział w monografii [Załącznik 4 II 2-1]. Ponadto otrzymane w toku mojej pracy doktorskiej materiały hodowlane marchwi, zostały włączone do programów hodowli polskich spółek hodowlano-nasiennych mających na celu uzyskanie odmian marchwi odpornych na połyśnicę marchwiankę [Załącznik 4 II 8-3]. Będąc doktorantką brałam także udział w innych tematach badawczych realizowanych w KGHiN, związanych z zastosowaniem markerów molekularnych w hodowli roślin, szczególnie w kontekście cytoplazmatycznej męskiej sterylności [Załącznik 4 II 8-2, 4]. Wynikiem tych prac są publikacje oraz doniesienia konferencyjne, w których jestem współautorem [Załącznik 4 II 4-1, 4-12, 6-R1, R2, R3, P3]. W trakcie studiów doktoranckich otrzymałam roczne stypendium badawcze z Niemieckiej Centrali Wymiany Akademickiej (DAAD) na pobyt w **Institute of Horticultural Crops (obecnie Institute for Breeding Research on Horticultural Crops/Julius Kühn Institut) w Quedlinburgu, w Niemczech**. Przedmiotem prowadzonych tam badań pod kierunkiem **Pani dr Evelyn Klocke**, była ocena mieszańców somatycznych marchwi i selera otrzymanych drogą fuzji protoplastów z zastosowaniem markerów molekularnych. Miałam wówczas możliwość rozszerzenia swoich umiejętności z zakresu stosowania markerów molekularnych, wykorzystywałam bowiem nie tylko markery typu RAPD, ale także AFLP i RFLP. Tam także po raz pierwszy zetknęłam się z techniką sekwencjonowania fragmentów DNA, gdyż w czasie mojego stypendium do pracowni, w której prowadziłam badania zakupiono sekwenator DNA (Applied Biosystems). Przez pewien czas miałam możliwość pracy na tym urządzeniu. Zdobyte w tym zakresie moje doświadczenie okazało się bardzo pomocne w uruchomieniu i użytkowaniu sekwenatora DNA, który w 2004 roku zakupiono do Katedry Genetyki, Hodowli i Nasiennictwa. Po obronie doktoratu i uzyskaniu tytułu doktor inżynier w zakresie genetyki i hodowli roślin, podjęłam pracę w KGHiN na stanowisku technik, a potem starszy technik. Realizowałam wówczas badania związane m.in. z oceną wyrównania linii hodowlanych buraka cukrowego, kapusty głowiastej białej i kalafiora, opracowaniem markerów DNA dla cechy odporności kapusty na krajowe izolaty *Plasmodiophora brassicae* oraz analizą zróżnicowania genetycznego patotypów tego patogena występujących na terenie Polski [Załącznik 4 II 8-5, 6, 7, 8]. Byłam także wykonawcą w grantie KBN, którego celem było zbadanie molekularnych podstaw sterylizującego działania cytoplazmy *Brassica nigra* na rośliny kalafiora [Załącznik 4 II 8-9], którego kierownikiem był **dr hab. Marek Szklarczyk, prof. URK**. W tamtym czasie w ramach programu COST 851 (*Genetic cells and molecular breeding for crop improvement*) otrzymałam finansowanie krótkoterminowego stażu badawczego w laboratorium markerów molekularnych u **Pani dr Stine Tuvesson, w Svalov Weibull AB (obecnie Lantmännen) w Szwecji**. Miałam wówczas możliwość testowania markerów DNA umożliwiających selekcję w kierunku odporności/wrażliwości na kiłę kapusty oraz markerów pozwalających na genotypowanie kapusty ze względu na samoniezgodność. Zdobyta wiedza i doświadczenie były przydatne w pracach badawczych prowadzonych w KGHiN, gdyż badane przeze mnie materiały roślinne stanowiły populacje pokolenia F2 uzyskane w katedrze. W toku prowadzonych w Szwecji badań wykazałam obecność w obrębie testowanych populacji markerów

DNA korelujących z fenotypem wrażliwości na kiłę kapusty. Zidentyfikowałam także w obrębie badanych materiałów kapusty pięć różnych S-haplotypów samoniezgodności, spośród których jeden nie był wcześniej znany.

Aktywność naukowa realizowana we współpracy z podmiotem gospodarczym

Doświadczenie w zakresie zastosowania markerów molekularnych w hodowli roślin pozwoliło mi podjąć w 2014 r. współpracę z **Panią dr Agnieszką Orzeł z Niwa Hodowla Roślin Jagodowych w Brzeznej**. W ramach tej współpracy oceniałam różnicowanie materiałów hodowlanych maliny z zastosowaniem różnych systemów markerów molekularnych oraz podjęłam się próby identyfikacji form maliny z genami odporności na wirusa krzaczastej karłowatości maliny (RBDV). Wygenerowany w ramach badań obraz dystansu genetycznego pozwolił określić polimorfizm w obrębie materiałów hodowlanych o niskim poziomie różnicowania fenotypowego i określić stopień pokrewieństwa pomiędzy badanymi obiektami. Wyniki jakie uzyskałam stanowiły oryginalne, nie wykorzystywane wcześniej w Firmie Niwa, narzędzie pomocne w selekcji materiałów hodowlanych i doboru form rodzicielskich do krzyżowań. Wyniki, uzyskane w ramach tej współpracy zostały opublikowane w formie artykułów naukowych [Załącznik 4 II 4-5, 8] oraz były prezentowane na dwóch konferencjach [Załącznik 4 II 6-R5, P21].

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

A) Osiągnięcia dydaktyczne

Opracowanie treści i prowadzenie wykładów:

- dla kierunku **Rolnictwo (Wydział Rolniczo-Ekonomiczny)**
 - Biologia nasion i embriologia*** (15 godz.)
 - Genetyka** (15 godz. dla studentów studiów stacjonarnych; 15 godz. dla studentów studiów niestacjonarnych)
 - Agrobiotechnologia** (8 godz. dla studentów studiów stacjonarnych; 7 godz. dla studentów studiów niestacjonarnych)
 - Metody oceny tożsamości gatunkowej i odmian roślin*** (15 godz.)
- dla kierunku **Agriculture (Wydział Rolniczo-Ekonomiczny)**
 - Botany and genetics** (w języku angielskim) (10 godz. 2013/2014; 15 godz. od 2020/2021)
- dla kierunku **Agriculture** w ramach programu Open Space for You (**Wydział Rolniczo-Ekonomiczny**)
 - Agrobiotechnology** (w języku angielskim) (6 godz.) (2019/2020)
 - Biological progress** (w języku angielskim) (2 godz.) (2019/2020)
- dla kierunku **Biogospodarka (Wydział Rolniczo-Ekonomiczny)**
 - Genetyka** (15 godz.)
 - Biotechnologia roślin** (2 godz.)
 - Podstawy biotechnologii** (9 godz.)
- dla kierunku **Biotechnologia (Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa)**
 - Doskonalenie roślin uprawnych i leśnych** (24 godz.)
 - Metody badania ekspresji genów** (2 godz.)
 - Biologia nasion** (15 godz.; przedmiot do wyboru)

Autoreferat

- dla doktorantów **Szkoły Doktorskiej Nauk Przyrodniczych i Rolniczych oraz Studium Doktoranckiego Nauk Przyrodniczych PAN** w Krakowie (2020/2021)
Współczesne trendy w hodowli roślin (3 godz. w ramach przedmiotu: Współczesne trendy uprawie roślin)
- dla słuchaczy **Studium Podyplomowego: Nowoczesne Metody w Doskonaleniu Roślin** (2016/2017)
Transkryptomika (2 godz.)
- dla słuchaczy **Studium Podyplomowego: Hodowla Roślin i Nasiennictwo** (2009/2010)
Nasiennictwo (2 godz.)

Przedmioty oznaczone gwiazdką () nie są już oferowane w żadnym z aktualnych cykli dydaktycznych. Dla przedmiotów: Genetyka, Metody oceny tożsamości gatunkowej i odmian roślin, Biologia nasion, jestem/byłam jedynym koordynatorem przedmiotu. Dla przedmiotów: Biologia nasion i embriologia, Agrobiotechnologia, Botany and genetics, Agrobiotechnology, Biotechnologia roślin, Doskonalenie roślin uprawnych i leśnych, jestem/byłam współkoordynatorem.*

Opracowanie treści i prowadzenie ćwiczeń:

- dla kierunku **Rolnictwo (Wydział Rolniczo-Ekonomiczny)**
Biologia nasion i embriologia* (15 godz.)
Genetyka (15 godz. dla studentów studiów stacjonarnych; 15 godz. dla studentów studiów niestacjonarnych)
Agrobiotechnologia (15 godz. dla studentów studiów stacjonarnych; 8 godz. dla studentów studiów niestacjonarnych)
Hodowla roślin i nasiennictwo (18 godz.)
Metody oceny tożsamości gatunkowej i odmian roślin* (15 godz.)
- dla kierunku **Agriculture (Wydział Rolniczo-Ekonomiczny)**
Botany and genetics (w języku angielskim) (20 godz. 2013/2014; 22 godz. od 2020/2021)
- dla kierunku **Agriculture** w ramach programu Open Space for you (**Wydział Rolniczo-Ekonomiczny**)
Agrobiotechnology (w języku angielskim) (6 godz.)
Biological progress (w języku angielskim) (3 godz.)
- dla kierunku **Biogospodarka (Wydział Rolniczo-Ekonomiczny)**
Genetyka (15 godz.)
Podstawy biotechnologii (15 godz.)
Biotechnologia roślin (5 godz.)
- dla kierunku **Biotechnologia (Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa)**
Genetyka ogólna (30 godz.)
Biologia molekularna (12 godz. 2015/2016)
Metody badania ekspresji genów (15 godz.)
Doskonalenie roślin uprawnych i leśnych (15 godz.)
Biologia nasion (15 godz. przedmiot do wyboru)
- dla słuchaczy **Studium Podyplomowego: Nowoczesne Metody w Doskonaleniu Roślin** (2016/2017)
Biologia molekularna (8 godz.)
Transkryptomika (4 godz.)

Autoreferat

- dla słuchaczy **Studium Podyplomowego: Hodowla Roślin i Nasiennictwo (2009/2010) Nasiennictwo** (4 godz.)

Przedmioty oznaczone gwiazdką (*) nie są już oferowane w żadnym z aktualnych cykli dydaktycznych.

Opieka naukowa nad studentami:

- promotor pracy magisterskiej 2005/2006-2020/2021 18 studentów
- promotor pracy inżynierskiej 2005/2006-2020/2021 12 studentów
- recenzent pracy magisterskiej 2005/2006-2020/2021 1 student
- recenzent pracy inżynierskiej 2005/2006-2020/2021 4 studentów
- recenzent pracy dyplomowej 2009/2010 1 student
(wykonywanej w ramach studiów podyplomowych)

Obecnie jestem promotorem jednej pracy magisterskiej, której obrona planowana jest na rok akademicki 2021/2022

Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego:

- promotor pomocniczy pracy doktorskiej mgr inż. Emilii Morańskiej pod tytułem: *Biosynteza galantaminy i likoryny w kulturach in vitro śnieżycy letniej (Leucojum aestivum L.)* (obrona 9.11.2020, promotor dr hab. Agata Ptak, prof. URK)

B) Osiągnięcia w zakresie organizacyjnym

1. Autorstwo wniosku o grant inwestycyjny na zakup aparatury naukowo-badawczej (2007 r.) – pozytywna decyzja Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 141/04/E-377/S/2007-1 z dnia 10 grudnia 2007 r. Pozyskanie środków na zakup aparatury laboratoryjnej.
2. Autorstwo wniosku o grant inwestycyjny na zakup aparatury naukowo-badawczej (2008 r.) – pozytywna decyzja Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 141/04/E-377/S/2008-1 z dnia 26 listopada, 2008 r. Pozyskanie środków na zakup aparatury laboratoryjnej.
3. Członek Zespołu Rektorskiego ds. opracowania koncepcji zagospodarowania Rząski (2014-2016).
4. Autorstwo wniosku na zakup aparatury naukowo-badawczej (2022 r.) – wniosek złożony w ramach konkursu JM Rektora UR.

C) Osiągnięcia w zakresie popularyzacji nauki

1. Przewodniczenie sesji referatowej w ramach IV Ogólnopolskiej Konferencji Doktorantów, Kraków (2010 r.).
2. Opiekun Sekcji Genetyki Roślin działającej w ramach Koła Naukowego Rolników (od 2010 r. do teraz).
Opiekun naukowy badań Pani inż. Ewy Ćwik: *Wpływ melatoniny na wzrost roślin Stevia rebaudiana Bertoni w warunkach stresu chłodu* - I miejsce na Wydziałowej Sesji Kół Naukowych Wydziału Rolniczo-Ekonomicznego oraz I miejsce na Ogólnouczelnianej Sesji Kół Naukowych UR, 2016 r.

3. Prezentacja Wydziału Rolniczo-Ekonomicznego podczas Festiwalu Nauki w Krakowie (2012 – 2014, 2016 r.).
4. Prezentacja Wydziału Rolniczo-Ekonomicznego w ramach Dni Otwartych Uczelni (2015 i 2017 r.).
5. Członek Komisji Egzaminacyjnej do przeprowadzenia egzaminów dyplomowych – inżynierskich dla studentów studiów stacjonarnych kierunku Rolnictwo (5 luty 2016 r.).
6. Przygotowanie zajęć w ramach oferty Wydziału Rolniczo-Ekonomicznego skierowanej do młodzieży (2017 r.).
7. Pełnienie funkcji jurora w ramach 7th International Conference for Young Researchers, Kraków (16-17 kwietnia 2018 r.).
8. Członek Komisji Egzaminacyjnej do przeprowadzenia egzaminów dyplomowych – inżynierskich dla studentów studiów stacjonarnych kierunku Biotechnologia (od 2019/2020 do teraz).
9. Aktywność naukowa realizowana we współpracy z młodzieżą szkolną.
Współopiekun badań realizowanych w ramach programu Explory (2016 i 2017 r.).
Opiekunami badań realizowanych w ramach tego programu były także: **Pani dr hab. Renata Bączek-Kwinta, prof. URK z Katedry Fizjologii Roślin** (od 2019 roku Katedra Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa) oraz **Pani dr hab. Agnieszka Baran, prof. URK z Katedry Chemii Rolnej** (od 2019 roku Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej).
Wykonawcami projektu byli uczniowie z Liceum Ogólnokształcącego nr VII i z Liceum Ogólnokształcącego nr II w Krakowie. Wyniki uzyskane w toku realizacji programu zostały zaprezentowane na konferencji Explory oraz w ramach publikacji naukowej [Załącznik 4 II 4-11].

7. Inne informacje, ważne z punktu widzenia wnioskodawcy, dotyczące kariery zawodowej

A) Kierowanie projektami badawczymi

Otrzymując zatrudnienie w Katedrze Hodowli Roślin i Nasiennictwa Wydziału Rolniczo-Ekonomicznego (obecnie Katedra Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa), podjęłam badania z zakresu nasiennictwa i biologii nasion [Załącznik 4 II 4-4, 14, 6-P5, P12, P13]. Szczególnie interesowały mnie zagadnienia związane z porastaniem ziarna zbóż. Tematyka ta została zapoczątkowana w katedrze przez **Pana prof. dr hab. Andrzeja Binka** i kontynuowana przez **Panią prof. dr hab. Marię Moś**. Pod kierunkiem Pani Profesor wykonywałam pierwsze doświadczenia związane z selekcją odpowiednich genotypów pszenicy i pszenżyta dla dalszych prac. Swoje badania nad porastaniem ukierunkowałam przede wszystkim na wyjaśnienie związku pomiędzy stanem spoczynku, a kiełkowaniem ziarna. Wyniki pierwszych doświadczeń zaprezentowałam na konferencji [Załącznik 4 II 6-P4], a w 2007 roku otrzymałam grant finansowany z funduszy MNiSW na badania: *Identyfikacja czynników odpowiedzialnych za spoczynek i kiełkowanie ziarniaków pszenicy (*Triticum aestivum*)* [Załącznik 4 II 8-10]. W granicy tym pełniłam rolę kierownika. Celem tych badań była identyfikacja nowych, nieznanych do tej pory genów związanych ze zjawiskiem spoczynku i porostania. Prowadzone badania obejmowały także charakterystykę ekspresji genów uczestniczących w biosyntezie ABA i GA₃ oraz genów regulatorowych zależnych od tych fitohormonów. W toku prowadzonych badań zidentyfikowałam szereg transkryptów specyficznych dla określonej fazy rozwoju ziarna pszenicy, a także specyficznych dla kolejnych

etapów kiełkowania, czy indukowanych działaniem egzogennych ABA i GA₃. Ilościowe analizy ekspresji wskazywały na potencjalny związek niektórych genów, między innymi *VP1*, *AAO3* czy *An1* z kształtowaniem predyspozycji ziarna do kiełkowania. Wyniki badań zostały opublikowane [Załącznik 4 II 4-7] oraz prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych [Załącznik 4 II 6-R4, P6, P8, P11, P14, P16, P18]. W 2007 roku otrzymałam także stypendium z Rektorskiego Funduszu Stypendialnego AR na realizację projektu *Analiza ekspresji genów mitochondrialnych w kolejnych etapach rozwoju i dojrzewania ziarniaków pszenicy ozimej (Triticum aestivum)* [Załącznik 3 7 D2; Załącznik 4 II 6-P7].

B) Współpraca z ośrodkami naukowymi/badawczymi

1. Zakład Biotechnologii, Instytut Fizjologii Roślin PAN, prof. dr hab. inż. Edyta Skrzypek, dr Marzena Warchoł, dr Michał Dziurka
2. Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, dr Agnieszka Szewczyk
3. Laboratorium Genetyki i Genomiki, Ośrodek Medycyny Eksperymentalnej i Innowacyjnej, UR w Krakowie, dr hab. inż. Artur Gurgul prof. URK
4. Katedra Biologii Roślin i Biotechnologii, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, UR w Krakowie, dr hab. Marek Szklarczyk, prof. URK
5. Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, dr hab. inż. Stefan Stojąłowski, prof. ZUT
6. Department of Vaccine Development, Moredun Research Institute, Wielka Brytania, dr Anita Jaglarz
7. Université de Lorraine, CNRS, L2CM, Nancy, Francja, prof. Dominique Laurain-Mattar
8. Niwa Hodowla Roślin Jagodowych sp. z o.o. Brzezna 565, 33-386 Podegrodzie, dr Agnieszka Orzeł

C) Odbyte kursy i szkolenia

1. Kurs w zakresie sekwencjonowania DNA i analizy wyników. (2003 r.) Pracownia Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów, Warszawa (3 dni) – uczestnik
2. Szkolenie w zakresie automatycznego sekwencjonowania DNA Beckman-Coulter Ltd., 2004 r. High Wycombe, Wielka Brytania (1 tydzień) – uczestnik
3. Szkolenie w zakresie obsługi i analizy danych 7500 Fast Real Time PCR System. (2006 r.) Applied Biosystems, Kraków (1 dzień) – uczestnik
4. Szkolenie w zakresie techniki real time PCR. (2008 r.) MBS Serwis dla Biologii Molekularnej/Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa (3 dni) – uczestnik
5. Ideas 4biology Sp. z o.o. (2015 r.) Kurs w zakresie obróbki danych NGS Poznań, (1 dzień) – uczestnik
6. Specjalistyczny kurs z języka angielskiego w ramach projektu Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie: *Wzmocnienie potencjału dydaktycznego Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie* współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego (III-XI 2014 r.) – uczestnik

D) Otrzymane nagrody i wyróżnienia (Nazwa i rok przyznania, nazwa organu przyznającego, określenie tytułu nagrody)

1. Stypendium z Funduszu im. Stanisława Pigonia przeznaczone dla doktorantów wyróżniających się dobrymi wynikami w nauce, pochodzących ze wsi i małych miasteczek. Organ przyznający: Uniwersytet Jagielloński, 2003 r.
2. Stypendium naukowe z Rektorskiego Funduszu Stypendialnego na realizację projektu badawczego *Analiza ekspresji genów mitochondrialnych w kolejnych etapach rozwoju i dojrzewania ziarniaków pszenicy ozimej (Triticum aestivum)*. Organ przyznający: Rektor Akademii Rolniczej im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, 2007 r.
3. Nagroda Indywidualna II° stopnia za wybitne osiągnięcia w dziedzinie naukowej. Organ przyznający: Rektor Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, 2013 r.
4. Odznaczenie Państwowe – Brązowy medal za Długoletnią Służbę, 2018 r.

E) Opracowania zbiorowe; katalogi zbiorów; dokumentacja prac badawczych, ekspertyz, utworów i dzieł artystycznych

Zgłoszone rekordy sekwencji nukleotydowych:

1. **Simlat M.**, Jaglarz A., Ptak A., Gurgul A. 2020. Genomic characterization of *Pantoea vagans* strain isolated from *Stevia rebaudiana* Bertoni seeds. GenBank (NCBI), accession no. JAAALG000000000.1
2. Ptak A., Gurgul A., Jaglarz A., Moranska E., Laurain-Mattar D., Spina R. **Simlat M.** 2021. Endophytic bacteria from *Leucojum aestivum* L. in vitro plants, a new source and elicitor of Amaryllidaceae alkaloids biosynthesis. GenBank (NCBI), accession no. JAIFIS010000000

8. Zestawienie liczbowe osiągnięć naukowych

Tabela 1. Liczbowe zestawienie dorobku naukowego według czasopism (alfabetyczne) z uwzględnieniem osiągnięcia naukowego

Czasopismo	Rok publikacji	Lista MNiSW/KBN ¹	Punkcja MNiSW/KBN ¹	IF ²
Acta Horticulturae (ISHS)	2016	-	10	0,184
Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus	2018	A	20	0,443
Agronomy	2020	A	100	3,417
Biuletyn IHAR	2008	B	4	-
Biuletyn IHAR	2019	-	20	-
Cellular & Molecular Biology Letters	2002	A	5	0,651
Central European Journal of Biology	2014	A	15	0,710
Engineering in Life Sciences	2013	A	20	1,890
Euphytica	2013	A	30	1,692
Folia Horticulturae	2001	B	4	-
Industrial Crops and Products	2019	A	200	4,244
PeerJ	2018	A	35	2,353
PeerJ	2020	A	100	2,984
Plant Cell, Tissue and Organ Culture	2017	A	35	2,004
PLoS ONE	2020	A	100	3,240
Scientia Horticulturae	2016	A	35	1,624
Scientia Horticulturae	2019	A	140	2,769
Spanish Journal of Agricultural Research	2017	A	25	0,811
Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych	2002	B	3	-
Rozdział w monografii w języku polskim	2005	-	5	
Razem	-	-	906	29,016

¹ Liczbę punktów MNiSW/KBN podano wg roku opublikowania na podstawie wykazu czasopism naukowych.

² Impact Factor (IF) wg bazy Journal Citation Reports (JCR, Web of Science) podano zgodnie z rokiem ukazania się pracy.

Autoreferat

Tabela 2. Liczbowe zestawienie dorobku naukowego według rodzaju aktywności naukowej z uwzględnieniem osiągnięcia naukowego

	Przed doktoratem			Po doktoracie			łącznie		
	Liczba	PKT MNiSW/KBN	IF	Liczba	PKT MNiSW	IF	Liczba	PKT MNiSW/KBN	IF
1. Oryginalne publikacje									
w bazie JCR	1	5	0,651	14	865	28,365	15	870	29,016
w innych czasopismach recenzowanych	2	7	0	2	24	0	4	31	0
w monografiach	0	0	0	1	5	0	1	5	0
2. Doniesienia konferencyjne opublikowane w materiałach konferencyjnych									
prezentowane w formie referatów	3	-	-	6	-	-	9	-	-
prezentowane w formie posterów	3	-	-	26	-	-	29	-	-
3. Razem									
	9	12	0,651	49	894	28,365	58	906	29,016

¹ Liczbę punktów MNiSW/KBN podano wg roku opublikowania na podstawie wykazu czasopism naukowych.

² Impact Factor (IF) wg bazy Journal Citation Reports (JCR, Web of Science) podano zgodnie z rokiem ukazania się pracy.

Tabela 3. Zestawienie liczby cytowań dorobku naukowego (stan na dzień 8 marca 2022)

	Baza Web of Science	Baza Scopus	Baza Google Scholar
Liczba prac w bazie	15	15	19
Liczba cytowań ogółem	161	173	253
Liczba cytowań bez autocytowań	146	149	-
Indeks Hirscha - <i>h</i>	6	6	8

.....
podpis wnioskodawcy