



AUTOREFERAT

Dr Agata Daszkowska-Golec

*Zespół Genetyki i Genomiki Funkcjonalnej Roślin,
Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska,
Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Śląski w Katowicach,
ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice
Katowice, 2021*



1) IMIĘ I NAZWISKO

Agata Daszkowska-Golec

2) POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE LUB ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM PODMIOTU NADAJĄCEGO STOPIEŃ, ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

2011 **Dyplom doktora nauk biologicznych**, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach

Tytuł rozprawy: Identyfikacja genów odpowiedzialnych za supresję nadwrażliwości na kwas abscysynowy u mutantu *abh1 Arabidopsis thaliana*

Promotor: Prof. dr hab. Iwona Szarejko

Recenzenci: Prof. dr hab. Jan Sadowski (Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu),

 Prof. dr hab. Waldemar Karcz (Uniwersytet Śląski w Katowicach)

Rozprawa doktorska została wyróżniona decyzją Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego dnia 18.11.2011 oraz Nagrodą JM Rektora UŚ za najlepszą pracę doktorską obronioną w latach 2011-2012.

2006 **Dyplom magistra** (Kierunek: Biologia; Specjalizacja: Biotechnologia roślin i mikroorganizmów), Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach

Tytuł pracy: Selekcja mutantów związanych z giberelinami i brasinosteroidami w kolekcji półkarłowych mutantów *Hordeum vulgare* L. oraz analiza molekularna mutantu 933Q

Promotor: Prof. dr hab. Mirosław Małuszyński

2004 **Dyplom licencjata** (Kierunek: Biologia), Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach

Tytuł pracy: Antybiotyki w rolnictwie – korzyść czy zagrożenie

Promotor: Prof. dr hab. Mirosław Małuszyński

3) INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH I ARTYSTYCZNYCH

2019-obecnie: **profesor uczelni**, Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Śląski w Katowicach

2013-2019: **adiunkt**, Katedra Genetyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach

2013-2014: **przerwa w działalności zawodowej ze względu na urlop macierzyński (322 dni)**

2006-2013: **asystent**, Katedra Genetyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach

4) OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1 PKT. 2 USTAWY O SZKOLNICTWIE WYŻSZYM

a. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Molekularne podstawy ABA-zależnej odpowiedzi jęczmienia jarego na stres suszy

b. SPIS PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD DZIEŁA HABILITACYJNEGO

Osiągnięcie naukowe zostało udokumentowane w cyklu powiązanych tematycznie pięciu prac badawczych i trzech przeglądowych opublikowanych w latach 2013-2020.

Kopie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia zostały zawarte w Załączniku nr 1 do Autoreferatu (1-Publikacje-osiagniecie-naukowe), natomiast oświadczenia współautorów publikacji stanowią Załącznik nr 2 do Autoreferatu (2-Oswiadczenia-wspolautorow_osiagniecie).

	Dane bibliograficzne	IF ¹	MNiSW ²	MNiSW ³	Cytowania ⁴
H1	DASZKOWSKA-GOLEC, A. ✉; SZAREJKO, I. (2013) Open or close the gate - stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. <i>Frontiers in Plant Science</i> 4:138	4.29	45	100	211 (382)
	Wkład habilitantki: 90%. <i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy przeglądowej w oparciu o najnowszą literaturę, napisaniu manuskryptu, przygotowaniu tabeli i wszystkich rycin, współudziale w przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów. Jestem autorem korespondencyjnym w tym artykule.</i> Praca przeglądowa				
H2	DASZKOWSKA-GOLEC A. ✉, SKUBACZ A, MARZEC M, SLOTA M, KUROWSKA M, GAJECKA M, GAJEWSKA P, PŁOCINICZAK T, SITKO K, PACAK A, SZWEYKOWSKA-KULINSKA Z and SZAREJKO I (2017) Mutation in <i>HvCBP20</i> (<i>Cap Binding Protein 20</i>) Adapts Barley to Drought Stress at Phenotypic and Transcriptomic Levels. <i>Frontiers in Plant Science</i> 8:942.	4.29	45	100	15 (18)
	Wkład habilitantki: 75%. <i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: współudziale w opracowaniu koncepcji badań i hipotez badawczych, zaplanowaniu doświadczeń, udziale w przeprowadzeniu doświadczeń i analizie danych (przeprowadzeniu bioinformatycznej analizy danych pochodzących z mikromacierzy, opracowaniu analiz fizjologicznych i morfologicznych), zintegrowaniu danych pochodzących z fenotypowania oraz analiz transkryptomu mutantu i odmiany wyjściowej w badanych warunkach, analizie statystycznej wyników i ich interpretacji, napisaniu manuskryptu, przygotowaniu wszystkich tabel i wykresów, odpowiedzi na uwagi recenzentów. Jestem autorem korespondencyjnym w tym artykule.</i> Praca oryginalna				

	Dane bibliograficzne	IF ¹	MNiSW ²	MNiSW ³	Cytowania ⁴
H3	DASZKOWSKA-GOLEC A. ✉ (2018) Emerging Roles of the Nuclear Cap-Binding Complex in Abiotic Stress Responses. <i>Plant Physiology</i> 176 (1) 242-253	6.28	45	140	7 (8)
	Wkład habilitantki: 100%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy przeglądowej w oparciu o najnowszą literaturę, napisaniu manuskryptu, przygotowaniu wszystkich rycin, przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów. Praca przeglądowa				
H4	DASZKOWSKA-GOLEC A. ✉, KARCZ J., PLOCINICZAK T., SITKO K., SZAREJKO I. (2020). Cuticular waxes - a shield of barley mutant in <i>CBP20</i> (<i>Cap-Binding Protein 20</i>) gene when struggling with drought stress. <i>Plant Science</i> , 300: 110593	3.59	100	100	0 (0)
	Wkład habilitantki: 80%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i hipotezy badawczej, zaplanowaniu i przeprowadzeniu doświadczeń oraz analizie danych (bioinformatycznej analizie danych pochodzących z mikromacierzy, przeprowadzeniu analizy ekspresji genów z wykorzystaniem metody Real-Time qPCR, opracowaniu wyników pochodzących z analiz fizjologicznych i pomiarów składu chemicznego wosków, oraz analiz struktur krystalicznych wosków przeprowadzonych dla mutantów w genie <i>CBP20</i> u <i>Arabidopsis</i> i jęczmienia jarego), zintegrowaniu danych pochodzących z fenotypowania oraz analiz ekspresji genów u mutantu i formy wyjściowej, analizie statystycznej wyników i ich interpretacji, napisaniu manuskryptu, przygotowaniu wszystkich tabel i wykresów, przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów. Jestem autorem korespondencyjnym w tym artykule. Praca oryginalna				
H5	DASZKOWSKA-GOLEC A. ✉, (2020). Degrade or Silence? – RNA Turnover Takes Control of Epicuticular Wax Synthesis, <i>Trends in Plant Science</i> , 25 (10): 950-952	14.41	200	200	1 (1)
	Wkład habilitantki: 100%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy przeglądowej w oparciu o najnowszą literaturę, napisaniu manuskryptu, przygotowaniu wszystkich rycin, przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów. Jestem autorem korespondencyjnym w tym artykule. Artykuł został przygotowany na zaproszenie Edytora. Praca przeglądowa				
H6	DASZKOWSKA-GOLEC A. ✉, SKUBACZ A., SITKO K., SŁOTA M., KUROWSKA M., SZAREJKO I. (2018) Mutation in barley <i>ERA1</i> (<i>Enhanced Response to ABA1</i>) gene confers better photosynthesis efficiency in response to drought as revealed by transcriptomic	4.36	45	100	8 (9)

	and physiological analysis. <i>Environmental and Experimental Botany</i> , 148: 12-26				
	<p>Wkład habilitantki: 80%. <i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: współudziale w opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i przeprowadzeniu doświadczeń (bioinformatycznej analizy danych pochodzących z mikromacierzy, analiz fizjologicznych), opracowaniu wyników, zintegrowaniu danych pochodzących z fenotypowania oraz analiz transkryptomu mutantu i odmiany wyjściowej w badanych warunkach, analizie statystycznej wyników i ich interpretacji, napisaniu manuskryptu, przygotowaniu wszystkich tabel i wykresów, przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów. Jestem autorem korespondencyjnym w tym artykule.</i></p> <p>Praca oryginalna</p>				
H7	<p>DASZKOWSKA-GOLEC, A.✉; COLLIN, A.; SITKO, K.; JANIĄK, A.; KALAJI, H.M.; SZAREJKO, I. (2019) Genetic and Physiological Dissection of Photosynthesis in Barley Exposed to Drought Stress. <i>International Journal of Molecular Sciences</i> 20, 6341.</p>	4.18	45	140	5 (5)
	<p>Wkład habilitantki: 80%. <i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu doświadczeń i analizie wyników (bioinformatycznej analizy danych pochodzących z mikromacierzy oraz RNA-seq, przeprowadzeniu analiz i opracowaniu wyników analiz fizjologicznych), zintegrowaniu danych pochodzących z fenotypowania oraz analiz transkryptomu odmiany wyjściowej w badanych warunkach, analizie statystycznej wyników i ich interpretacji, napisaniu manuskryptu, przygotowaniu wszystkich tabel i wykresów, przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów. Jestem autorem korespondencyjnym w tym artykule.</i></p> <p>Praca oryginalna</p>				
H8	<p>MARZEC M.* ✉, DASZKOWSKA-GOLEC A.*, COLLIN A., EGGER K., MELZER M., SZAREJKO I. (2020) Barley strigolactone signalling mutant <i>hvd14.d</i> reveals the role of strigolactones in abscisic acid-dependent response to drought. <i>Plant, Cell and Environment</i>, DOI: 10.1111/pce.13815</p>	6.36	140	140	1 (1)
	<p>Wkład habilitantki: 40%. <i>Posiadam status jednego z dwóch równorzędnych pierwszych autorów tej pracy. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: współudziale w opracowaniu koncepcji badań i hipotezy badawczej, zaplanowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu doświadczeń (przeprowadzenie eksperymentu stresu suszy, analizy parametrów fizjologicznych, analizy ekspresji genów z wykorzystaniem metody Real-Time qPCR), opracowaniu wyników analiz fizjologicznych, współudziale w zintegrowaniu danych pochodzących z fenotypowania oraz analiz ekspresji genów, analizie statystycznej wyników, współudziale w przygotowaniu ostatecznej wersji manuskryptu, wykresów związanych z pomiarami fizjologicznymi, współudziale w przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów.</i> Praca oryginalna</p>				

¹Wartość wskaźnika Impact Factor (IF) według Journal Citation Reports (Thomson Reuters) podano zgodnie z rokiem ich opublikowania

²Punktację MNiSW dla poszczególnych publikacji podano zgodnie z punktacją określoną w wykazie czasopism naukowych obowiązującym na koniec roku kalendarzowego, w którym ukazała się publikacja,

³Dodatkowo, ze względu na zmiany w sposobie wyliczania punktów dla czasopism, podano punktację MNiSW według wykazu obowiązującego od 18 grudnia 2019 roku,

⁴Cytowania publikacji podano za bazą Web of Science (WoS) na dzień 12 stycznia 2021, w nawiasach podano liczbę cytowań za bazą Google Scholar na dzień 12 stycznia 2021.

Dane naukometryczne dla osiągnięcia habilitacyjnego

Sumaryczny IF ¹ :	47.76	Suma punktów MNiSW ² :	665
		Suma punktów MNiSW ³ :	1020
		Liczba cytowań wg Web of Science ⁴ :	248
		Liczba cytowań wg Google Scholar ⁴ :	424

¹Wartość wskaźnika Impact Factor (IF) według Journal Citation Reports (Thomson Reuters) podano zgodnie z rokiem ich opublikowania

²Punktację MNiSW dla poszczególnych publikacji podano zgodnie z punktacją określoną w wykazie czasopism naukowych obowiązującym na koniec roku kalendarzowego, w którym ukazała się publikacja,

³Dodatkowo, ze względu na zmiany w sposobie wyliczania punktów dla czasopism, podano punktację MNiSW według wykazu obowiązującego od 18 grudnia 2019 roku,

⁴Cytowania publikacji podano za bazą Web of Science (WoS) na dzień 12 stycznia 2021, w nawiasach podano liczbę cytowań za bazą Google Scholar na dzień 12 stycznia 2021.

Wszystkie prace składające się na cykl publikacji, powstały po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych i stanowią wyniki projektów:

(1) **POLAPGEN-BD: Narzędzia biotechnologiczne służące do otrzymywania zbóż o zwiększonej odporności na suszę** (European Regional Development Fund through the Innovative Economy for Poland 2007-2013, projekt WND-POIG.01.03.01-00-101/08 POLAPGEN-BD), w którym pełniłam funkcję głównego wykonawcy w zadaniu badawczym nr 22

(2) **SONATA 10 Genomika translacyjna w identyfikacji mechanizmu działania signalosomu CBP20 w odpowiedzi Arabidopsis i jęczmienia na stres suszy** (2015/19/D/NZ9/03573) finansowanego przez NCN realizowanego w latach 2016-2020, którego byłam kierownikiem

(3) **BEETHOVEN-LIFE1 Investigation of the role of strigolactones in response to drought using a barley mutant collection** (2018/31/N/HS2/02453) finansowanego przez NCN realizowanego w latach 2019-2022, w którym jestem wykonawcą.

c. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WYMIENIONYCH PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW

Proces kolonizacji lądu przez organizmy roślinne rozpoczął się ponad 470 milionów lat temu (Morris et al., 2018; Bowles et al., 2020). Podobnie datować można początek ewolucji roślinnych mechanizmów odpowiedzi na stres (Sussmilch et al., 2019). Stres definiowany jest jako każda sytuacja, w której organizm żywy narażony jest na zaburzenie homeostazy, a więc charakterystycznej dla niego strefy komfortu. Rośliny, żyjące do tej pory w środowisku wodnym, poddane zostały na lądzie ekspozycji na niesprzyjające warunki, jak np. silne promieniowanie UV, ograniczenie wody lub składników odżywczych w podłożu, wysokie temperatury. O przetrwaniu roślin zadecydował stopień przystosowania się do zmiennych warunków środowiska lądowego. Rośliny narażone na stres zdają się być na przegranej pozycji względem organizmów zwierzęcych z uwagi na osiadły tryb życia. Jednakże to właśnie brak możliwości przemieszczania się roślin spowodował, że ich reakcja na stres jest definiowana na poziomie molekularnym szybko i wydajnie, by zapewnić ochronę i przeżycie.

Badania wskazują, że najważniejszym *novum* w toku ewolucji roślin, umożliwiającym im przetrwanie w warunkach lądowych, było wykształcenie aparatów szparkowych, na które składają się komórki przyszparkowe i szparka o zmiennej aperturze. Choć komórki szparkowe, jak wykazały prace badawcze nad *Physcomitrella patiens*, początkowo były zdolne tylko do jednokrotnego otwarcia apertury, tak by zapewnić wysychanie sporofitu (Cardoso and McAdam, 2019), to w późniejszym czasie zyskały najważniejszą rolę dla przeżycia roślin lądowych. Dzięki mechanizmowi otwierania i zamykania apertury w odpowiedzi na warunki środowiska, komórki szparkowe umożliwiają regulację procesu transpiracji, chroniąc roślinę przed nadmierną utratą wody w niesprzyjających warunkach. Ponadto odgrywają kluczową rolę w procesie asymilacji dwutlenku węgla, co z kolei jest istotne dla podstawowego procesu metabolicznego roślin, jakim jest fotosynteza (Sussmilch et al., 2019). O dynamice i ciągłej ewolucji aparatów szparkowych świadczy także różnica w ich morfologii między roślinami dwuliściennymi i jednoliściennymi. U jednoliściennych kształt komórek przyszparkowych przypominający hantle przekłada się bezpośrednio na zwiększoną szybkość ich reakcji (Raissig et al., 2017).

Regulacja działania aparatów szparkowych, szczególnie w warunkach stresowych, w głównej mierze zależy od kwasu abscysynowego (ABA). Fitohormon ten stanowi główny regulator złożonej odpowiedzi roślin na stres. Przełom w rozumieniu procesu sygnalizacji ABA nastąpił dopiero w 2009 roku, kiedy u *Arabidopsis* zidentyfikowano 14 białek receptorowych z rodziny PYR/PYL/RCAR (PYRABACTIN RESISTANCE1/PYR1-LIKE/REGULATORY COMPONENT OF ABA RESPONSE 1) (Melcher et al., 2009; Santiago et al., 2009; Hubbard et al., 2010; Szostkiewicz et al., 2010). Późniejsze analizy krystalograficzne umożliwiły opisanie interakcji pomiędzy ABA-PYR/PYL/RCAR, fosfatazami PP2C (PROTEIN PHOSPHATASE 2C), kinazami

SnRK2 (SNF RELATED KINASES 2) (Fujii et al., 2009; Melcher et al., 2009; Yin et al., 2009; Hubbard et al., 2010), definiując tym samym rdzeniowy signalosom kwasu abscysynowego. Szczegółowe badania filogenetyczne i wielkoskalowe analizy genomyczne z wykorzystaniem wysokoprzepustowego sekwencjonowania następnej generacji (NGS) wskazują jasno, że ABA był kluczowym hormonem w adaptacji roślin do warunków lądowych. Komponenty sygnalizacji ABA zostały zidentyfikowane u większości gatunków roślin lądowych, ale co niezwykle ciekawe, również u przodków, jakimi są glony. Początkowo fizjologiczna rola ABA u roślin na lądzie ograniczała się do wspomnianych już procesów regulujących zamykanie szparek związane z wysychaniem sporofitu paprotników (Cardoso and McAdam, 2019) lub determinacji płci u mszaków (McAdam et al., 2016). Z czasem jednak ewolucja ścieżki sygnałowej tego fitohormonu uczyniła go głównym regulatorem odpowiedzi na stres środowiskowy, jakiego doświadczają rośliny (Bowles et al., 2020).

Biorąc pod uwagę dynamikę zmian klimatycznych i związane z nimi okresowe susze czy zalewania, prowadzące do znacznych strat w plonowaniu upraw na całym świecie, szczególnie **istotne jest zintensyfikowanie badań zmierzających do pełnego zrozumienia mechanizmu odpowiedzi roślin na suszę. Reakcja na stres stanowi wielowymiarową sieć zależności molekularnych** przekładających się na wiele płaszczyzn, jak np. morfologia czy fizjologia rośliny. Mimo prowadzenia wielu badań, **identyfikacja genów kluczowych dla regulacji odpowiedzi na stres, określenie mechanizmu ich działania oraz późniejsze wykorzystanie tej wiedzy w celu sterowania odpowiedzią roślin na stres, czyniąc je lepiej zaadaptowanymi, wciąż wymaga zaangażowania badaczy.**

Mając na uwadze ewolucyjny kontekst i znaczenie sieci sygnalizacyjnej ABA w regulacji odpowiedzi roślin na stres suszy, podjęłam badania w tym temacie, skupiając się na genach kodujących negatywne regulatory sygnalizacji ABA. Badania prowadziłam z wykorzystaniem dwóch oddalonych genetycznie gatunków, wykorzystując model w biologii molekularnej roślin, jakim jest przedstawiciel roślin dwuliściennych - *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.), a także jednoliściennych, których przedstawicielem jest ważny gatunek uprawny – jęczmień jary (*Hordeum vulgare* L.).

W pracy badawczej wyznaczyłam następujące cele:

- 1. Szczegółowe zbadanie efektu mutacji w genie *HvCBP20*, kodującym negatywny regulator sygnalizacji kwasu abscysynowego, w warunkach stresu suszy u jęczmienia**

*Badania prowadzono w oparciu o zidentyfikowanego w toku analiz mutantu TILLING jęczmienia jarego w genie *HvCBP20*. Analizy prowadziłam w ramach projektu POLAPGEN-BD i NCN SONATA10, a wynikiem prowadzonych prac są publikacje **H1, H2, H3, H4, H5** prezentowane jako wchodzące w skład cyklu prac składających się na omawiane osiągnięcie naukowe.*

2. Sprawdzenie czy istnieje ewolucyjnie konserwowany mechanizm odpowiedzi na stres suszy u odległych genetycznie roślin dwuliściennych i jednoliściennych na przykładzie mutantów w genie *CBP20*

*W celu weryfikacji hipotezy o ewolucyjnie konserwowanym mechanizmie działania *CBP20* w stresie, zastosowano układ doświadczalny, gdzie badano mutanty jęczmienia i *Arabidopsis* w genie *CBP20* w bliźniaczych analizach dotyczących reakcji na stres suszy. Badania prowadziłam w ramach projektu NCN SONATA10, a wynikiem analiz są publikacje **H4**, **H5** prezentowane jako wchodzące w skład cyklu prac składających się na omawiane osiągnięcie naukowe.*

3. Szczegółowe poznanie wpływu mutacji w genie *HvERA1*, kodującym negatywny regulator sygnalizacji kwasu abscysynowego, u jęczmienia w warunkach stresu suszy

*Z uwagi na fenotyp mutantów *Arabidopsis* w genie *ERA1* i brak szczegółowych informacji na temat roli tego genu w regulacji odpowiedzi na stres suszy podjęto badania, mające na celu szczegółową charakterystykę zidentyfikowanego w toku analiz mutantu *TILLING* jęczmienia jarego w genie *HvERA1*, a przez to wskazanie mechanizmu regulowanego przez *HvERA1*. Wynikiem prowadzonych badań jest publikacja **H6** wchodząca w skład cyklu prac składających się na omawiane osiągnięcie naukowe.*

4. Określenie podstaw molekularnych procesu fotosyntezy u jęczmienia jarego w warunkach stresu suszy w oparciu o badanie transkryptomiczne

*Z uwagi na wyniki uzyskane w przypadku mutantu w genie *HvERA1*, kodującym beta podjednostkę farnesylazy, moją szczególną uwagę zwrócił proces fotosyntezy w kontekście stresu suszy. Stąd podjęłam próbę opisu fotosyntezy w warunkach deficytu wody na poziomie molekularnym. Oprócz szczegółowej analizy fizjologicznej procesu fotosyntezy, zastosowałam analizę globalnego profilu ekspresji genów z wykorzystaniem zarówno mikromacierzy ekspresyjnych, jak również wysokoprzepustowego sekwencjonowania transkryptomu (RNA-seq) roślin poddanych stresowi suszy. Badania prowadziłam w ramach projektu NCN SONATA10, a wynikiem prowadzonych prac jest publikacja **H7** prezentowana jako wchodząca w skład cyklu prac, składających się na omawiane osiągnięcie naukowe.*

5. Sprawdzenie związku między działaniem szlaku sygnałowego ABA i innych fitohormonów w warunkach stresu suszy u jęczmienia i *Arabidopsis*

*Cel prowadzonych badań wynikał ze znaczenia interakcji hormonalnych w wytworzeniu optymalnej reakcji roślin na stres suszy. Dobrze ugruntowana rola w regulacji stresu suszy przez ABA została skonfrontowana ze stosunkowo młodą (w kontekście ich poznania) grupą hormonów – strigolaktonami (SL). Dodatkowo sprzeczne raporty na temat udziału SL w odpowiedzi na stres zaważyły o podjęciu badań z wykorzystaniem mutantów w genie kodującym jedyny receptor SL – *D14* u dwóch odległych gatunków jak jęczmień i *Arabidopsis*. Podjęliśmy próbę sprawdzenia czy zaburzony signaling SL wpływa na zmienioną odpowiedź na stres deficytu wody i czy zależy od reakcji na ABA. Badania prowadziłam w ramach projektu NCN BETHOVEN-LIFE, a wynikiem prowadzonych prac jest publikacja **H8** prezentowana jako wchodząca w skład cyklu prac składających się na omawiane osiągnięcie naukowe*

Cele badawcze zostały zrealizowane, a wyniki badań zostały opisane łącznie w ośmiu publikacjach naukowych (H1-H8), które przedstawiam jako cykl prac stanowiących prezentowane osiągnięcie naukowe. **Uzyskane wyniki dotyczą pierwszych u jęczmienia analiz funkcjonalnych silnie konserwowanych ewolucyjnie genów, o dużym znaczeniu w regulacji stresu suszy na drodze ABA-zależnej.** Wysoki stopień konserwowania sekwencji badanych genów oraz, jak wykazano w omówionych poniżej badaniach, zachowanej ewolucyjnie funkcji, stanowi również o znacznym potencjale aplikacyjnym badanych genów w kontekście uprawy jęczmienia w obliczu zmian klimatycznych.

Szczegółowe zbadanie efektu mutacji w genie *HvCBP20*, kodującym negatywny regulator sygnalizacji kwasu abscysynowego, w warunkach stresu suszy u jęczmienia

Molekularny mechanizm sygnalizacji i syntezy kwasu abscysynowego w odpowiedzi roślin na stres abiotyczny ze szczególnym uwzględnieniem regulacji transpiracji przez aparaty szparkowe

*Celem usystematyzowania danych dostępnych na temat genów istotnych w szlaku sygnalizacyjnym kwasu abscysynowego ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów molekularnych leżących u podstaw regulacji aparatów szparkowych u Arabidopsis przygotowałam publikację przeglądową (H1: Daszkowska-Golec and Szarejko, 2013, *Frontiers in Plant Science* 4:138).* Praca zawiera autorskie schematy regulacji zamykania/otwierania szparek w kontekście działania kanałów jonowych, pomp i transporterów; sygnalizacji zależnej od cyklu okołodobowego, a także interakcji sygnalizacji fitohormonów z uwzględnieniem jasmonianów, cytokinin, auksyn, etylenu i brasinosteroidów. Istotnym elementem omawianej pracy jest tabela zestawiająca informacje na temat funkcji oraz efektu fenotypowego mutacji w 28 genach Arabidopsis, związanych ze zmienioną reakcją aparatów szparkowych na stres. Omawiana praca przeglądowa systematyzuje dane dotyczące mechanizmów molekularnych, ze szczególnym uwzględnieniem sygnalizacji i metabolizmu kwasu abscysynowego (ABA), leżących u podstaw regulacji apertury aparatów szparkowych. O wartości tej pracy świadczyć może odbiór środowiska naukowego odzwierciedlony w liczbie cytowań (na dzień 5 października 2020 r. wg Web of Science 193; wg Google Scholar Citation 349). Przygotowywanie materiałów do tego wielowymiarowego źródła umożliwiło w toku realizacji projektu POLAPGEN-BD wybór genów, kodujących negatywne regulatory sygnalizacji ABA celem ich późniejszej analizy funkcjonalnej u jęczmienia jarego. Wybrane do dalszych analiz geny *CBP20* (*Cap-Binding Protein 20*) oraz *ERA1* (*Enhanced Response to ABA1*) stanowią interesujący obiekt badań, nie tylko ze względu na fenotyp mutantów insercyjnych opisanych u Arabidopsis, ale także na wysoki stopień konserwacji kodowanych przez nie białek.

Kompleks białkowy (Cap-Binding Complex) złożony z dwóch podjednostek CBP20 (Cap-Binding Protein 20) i CBP80 (Cap-Binding Protein 80) wiąże ko-transkrypcyjnie strukturę czapeczki (7-metyloguanina) na końcu 5' nowopowstałego transkryptu polimerazy II RNA (Mazza et al.,

2002; Worch et al., 2005). Zatem, lokalizacja, ale również zdolność do interakcji z szeregiem komponentów związanych z metabolizmem RNA, czyni ten kompleks zaangażowanym w podstawowe procesy komórkowe, jak metabolizm RNA i biogeneza miRNA. Zarówno sekwencja nukleotydowa, jak i aminokwasowa, obu podjednostek są silnie konserwowane wśród Eukaryota. Z dwóch podjednostek to właśnie CBP20 u organizmów roślinnych wiąże się bezpośrednio ze strukturą czapeczki na końcu 5' transkryptów, bierze czynny udział w kierowaniu kompleksu CBC do jądra (u zwierząt i człowieka funkcję tę pełni CBP80), i stabilizuje strukturę kompleksu CBC (Hugouvieux et al., 2001; Hugouvieux et al., 2002; Kierzkowski et al., 2009). W kontekście zaangażowania CBC w regulację podstawowej maszynerii komórkowej niezwykle intrygujący jest fakt, że mutanty *Arabidopsis* zarówno w genie *CBP20*, jak i *CBP80* wykazywały nadwrażliwość na ABA w czasie kiełkowania nasion i tolerancję na stres suszy (Hugouvieux et al., 2002; Papp et al., 2004; Jäger et al., 2011; Daszkowska-Golec et al., 2013). Badania prowadzone z wykorzystaniem linii ziemniaka z wyciszonym genem *CBP80* również wykazały udział ortologa CBP80 w reakcji na stres suszy (Pieczynski et al., 2012). Biorąc pod uwagę, że u roślin kluczową rolę dla działania kompleksu CBC pełni CBP20, na działaniu tego genu skoncentrowałam swoje pytania badawcze.

Ze względu na szczególne zainteresowanie negatywną regulacją sygnalizacji ABA w kontekście odpowiedzi na stres suszy, kolejnym genem, którego analizy funkcjonalnej się podjęłam był gen *ERA1* (*Enhanced Response to ABA1*). U *Arabidopsis* mutant *era1* wykazywał nadwrażliwość na ABA w czasie kiełkowania nasion, a także tolerancję na stres dehydratacji (Cutler et al., 1996). Co ciekawe, również u gatunków uprawnych, jak soja czy pszenica, wyciszenie homologa *ERA1* powodowało lepszą odpowiedź na stres suszy (Manmathan et al., 2013; Ogata et al., 2017). *ERA1* koduje beta-podjednostkę farnezylotransferazy (FT), enzymu stanowiącego heterodimer złożony z podjednostki alfa (FTA) i wspomnianej beta (FTB). Podjednostka beta posiada właściwości katalizujące proces farnezytacji, który polega na dołączaniu reszt prenylowych do białek posiadających na końcu C specyficzny motyw 'CaaX', gdzie 'C' oznacza cysteinę, 'a' oznacza aminokwasy alifatyczne, a 'X' oznacza serynę, cysteinę, metioninę, glutaminian lub alaninę. W obrębie rozpoznanego motywu FT przyłącza do cysteiny resztę prenylową, po czym następują dalsze etapy obróbki modyfikowanego białka obejmujące proteolizę trzech ostatnich aminokwasów katalizowaną przez STE24 (CaaX PRENYL PROTEASE 1) i metylację izoprenylowanej cysteiny kontrolowaną przez STE14B i STE14A (ISOPRENYL CYSTEINE METHYLTRANSFERASE 14A; 14B). Ta post-translacyjna modyfikacja białek jest bardzo utrwalonym ewolucyjnie procesem zarówno w świecie roślin, gdzie odgrywa kluczową rolę w reakcjach stresowych i w czasie kiełkowania nasion, ale również w organizmach zwierzęcych i u człowieka. Przykładowo permanentna farnezytacja lamin u człowieka, wynikająca z braku funkcjonalnego enzymu przeprowadzającego proteolizę (STE24) trzech aminokwasów na końcu C farnezylowanego białka, skutkuje rozwojem progerii (Worman and Michaelis, 2018).

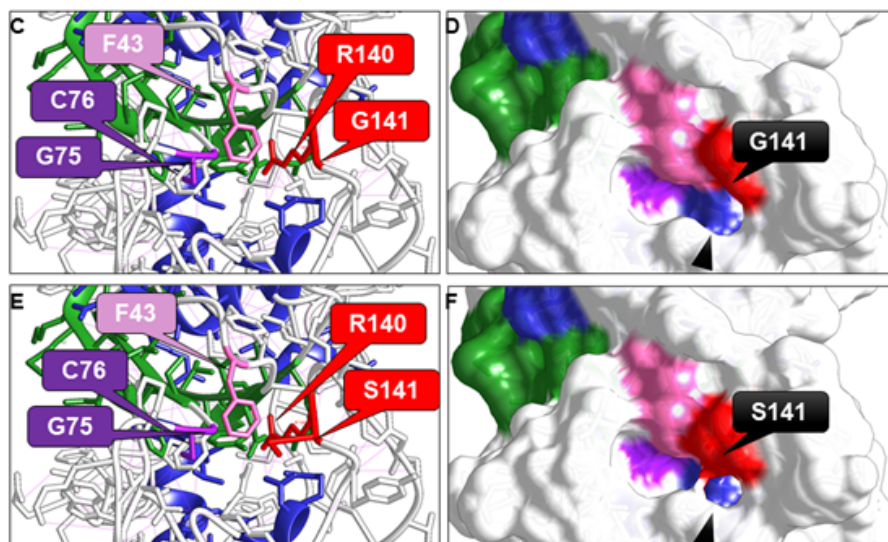
CBP20 (Cap-Binding Protein 20) negatywnym regulatorem odpowiedzi na stres suszy na drodze ABA-zależnej u jęczmienia jarego

Mimo intensywnych badań, jakie prowadzone są nad ustaleniem szczegółów odpowiedzi roślin na stres, wciąż brak jest informacji, które umożliwiłyby wytłumaczenie reakcji na deficyt wody mutantów w genie *CBP20*. Ponadto brak jest szczegółowych danych na temat zmian dotyczących fenotypu, jakie wywoływane są przez mutację w tym genie. **Założyłam, że CBP20 pełni rolę nadrzędnego regulatora odpowiedzi na stres suszy**, który poprzez regulację podstawowych procesów komórkowych moduluje sieć sygnałową odpowiedzi na stres. **Pierwszym etapem badań koniecznym do przeprowadzenia analizy funkcjonalnej genu *CBP20* (zwanego dalej w tekście *HvCBP20*) u jęczmienia jarego była identyfikacja jęczmiennego homologa**, a także późniejsza analiza TILLING w celu identyfikacji mutantów w tym genie. Działania te prowadzone były znacznie wcześniej niż skryształizowały się moje plany badawcze. Próby identyfikacji sekwencji genomowej *HvCBP20* podjęto jeszcze w czasie realizacji projektu zamawianego PBZ-MNiSW-2/3/2006/8 „Stworzenie platformy TILLING *Hordeum vulgare* jako trwałego narzędzia genomiki funkcjonalnej i doskonalenia cech użytkowych” (MNiSW, 2007-2010) we współpracy z zespołem prof. Zofii Szweykowskiej-Kulińskiej. W projekt ten byłam zaangażowana jako wykonawca w czasie realizacji badań do pracy doktorskiej.

Zidentyfikowana sekwencja genomowa posłużyła do analiz z wykorzystaniem metody odwrotnej genetyki – TILLING. W celu identyfikacji mutacji w genie *HvCBP20* wykorzystano populację *HorTILLUS* (*Hordeum vulgare* TILLING population University of Silesia) wyprowadzoną w Katedrze Genetyki WBiOŚ UŚ (obecnie Zespół Genetyki i Genomiki Funkcjonalnej Roślin, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Śląski w Katowicach) w ramach w/w projektu, którego kierownikiem była prof. Iwona Szarejko. Populacja blisko 10 000 roślin M₂ została uzyskana w wyniku mutagenyzy chemicznej odmiany ‘Sebastian’ (Szurman-Zubrzycka et al., 2018). W ramach projektu POLAPGEN-BD wygenerowano unikalne narzędzie do analiz z zakresu genomiki funkcjonalnej genu *HvCBP20* w postaci serii allelicznych mutantów.

W celu zbadania potencjalnego wpływu mutacji na funkcjonowanie białka kodowanego przez zmutowany allel *hvcbp20.ab* przeprowadziłam analizy *in silico* oraz przestrzenne porównawcze modelowanie struktury białka. Analizy te pozwoliły stwierdzić, że mutacja *hvcbp20.ab* ma potencjalnie wysoki **wpływ na funkcjonalność białka *HvCBP20***, ale także całego kompleksu CBC. Wykazałam, że substytucja glicyny (G) do seryny (S) w pozycji 141. jęczmiennego białka *CBP20* prowadzi do zmiany w strukturze trzeciorzędowej, a także do powstania dodatkowego wiązania wodorowego pomiędzy arginina (R) 140., a podstawioną pod glicynę seryną w pozycji 141. (**Rycina 1**). Co ciekawe, dla poprawnego sfałdowania białka *CBP20* kluczowe jest upakowanie fenyloalaniny (F) w pozycji 43. pomiędzy reszty R140 i G141, a parę reszt G75 i C76. Wspomniane już zidentyfikowane w badaniach dodatkowe wiązanie wodorowe między R140

a S141 w białku kodowanym przez zmutowany allel, w pewnym stopniu może utrudniać poprawne sfałdowanie białka CBP20, a w konsekwencji obniżenie jego funkcjonalności.



Rycina 1. Wizualizacja trzeciorzędowej struktury białka CBP20 u jęczmienia jarego uzyskana w wyniku modelowania porównawczego. Modelowanie porównawcze regionu białka CBP20 istotnego dla poprawnego fałdowania: C, D – u formy dzikiej, E, F – u mutantu *hvcbp20.ab* (zmodyfikowano: H2: Daszkowska-Golec et al., 2017, *Frontiers in Plant Science* 8: 942). Na rycinie przedstawione następujące aminokwasy budujące ilustrowany fragment białka CBP20: F – Fenylalanina, C – Cysteina, G – Glicyna, R – Arginina, S – Seryna.

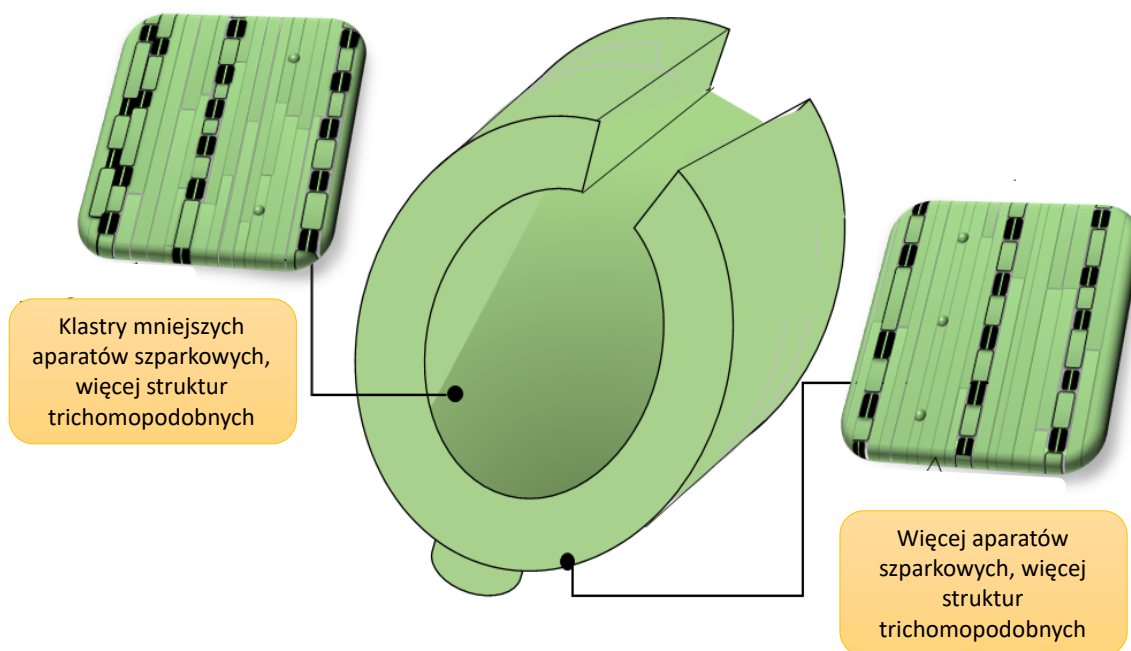
Z literatury wiadomo, że mutant *cbp20* *Arabidopsis* wykazuje nadwrażliwość na ABA w czasie kiełkowania nasion (Papp et al., 2004). Dlatego w celu sprawdzenia czy jęczmienny homolog jest również zaangażowany w sygnalizację ABA na tym etapie rozwoju, przeprowadziliśmy test wrażliwości na ABA mutantu *hvcbp20.ab* oraz jego odmiany wyjściowej 'Sebastian'. Okazało się, że *hvcbp20.ab* wykazuje wrażliwość w odpowiedzi na ABA, co jednoznacznie pozwoliło na postawienie hipotezy, że **rola CBP20 jest konserwowana ewolucyjnie w kontekście sygnalizacji ABA**. Protokół testów wrażliwości jęczmienia jarego na ABA oraz wybrane stresy abiotyczne w stadium kiełkowania nasion i rozwoju siewki opracowaliśmy w Katedrze Genetyki UŚ (Daszkowska-Golec et al., 2019). Kolejnym etapem moich badań było szczegółowe fenotypowanie mutantu *hvcbp20.ab* w warunkach stresu niedoboru wody. Protokół prowadzenia eksperymentu, w którym rośliny w stadium siewki poddane zostały traktowaniu stresem suszy został opracowany pod moim kierunkiem w ramach projektu POLAPGEN-BD na podstawie sporządzonej przez Partnerów z Instytutu Agrofizyki, PAN w Lublinie i Instytut Upraw i Nawożenia Gleb w Puławach oraz z Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie procedur. Nasz protokół zakładał traktowanie we wczesnym stadium rozwoju, tj. w stadium 14-dniowej siewki, silnym stresem suszy glebowej (ok. 30% maksymalnego wysycenia wodą gleby), a dodatkowym parametrem wpływającym na deficyt wody była podniesiona do 25°C temperatura w czasie 10-dniowego okresu traktowania stresem. Wyznaczyliśmy interwały czasowe eksperymentu, w których rośliny wzrastały w optymalnych warunkach nawodnienia (do 10 dnia), narażone były na stopniowy ubytek wody z podłoża (10-15 dzień), a następnie poddane zostały 10-dniowemu okresowi silnego stresu deficytu wody (do 25 dnia eksperymentu) (H2: Daszkowska-Golec i in., 2017, *Frontiers in Plant*

Science 8: 942). W wyniku wstępnych eksperymentów prowadzonych w ramach projektu POLAPGEN-BD dowiedzieliśmy się, że mutant *hvcbp20.ab* charakteryzuje się wyższą o ok. 30% zawartością wody w liściu (parametr RWC, ang. *Relative Water Content*) po stresie suszy w porównaniu do odmiany wyjściowej 'Sebastian' rosnącej w tych samych warunkach. **Wykazaliśmy zatem rolę genu *CBP20* u jęczmienia w warunkach stresu suszy.** W celu możliwie najbardziej szczegółowego zbadania reakcji mutantu *hvcbp20.ab* podjęłam próbę opisaną jej na kilku płaszczyznach:

- morfologicznej (badając wzór epidermy, strukturę wosków epikutikularnych z wykorzystaniem mikroskopii skaningowej, wzrost z wykorzystaniem obrazowania),
- fizjologicznej (badając wydajność fotosyntezy z wykorzystaniem testu OJIP, przewodnictwo aparatów szparkowych, szczelność błon komórkowych, zawartość wody w liściu),
- genetycznej (badając transkryptom).

Okazało się, że przystosowanie mutantu *hvcbp20.ab* do stresu suszy wynika ze zdolności do szybszego przeprogramowania metabolizmu, na co składa się kilka powiązanych ze sobą procesów. Zaobserwowana w pierwszych analizach wyższa o 30% zawartość wody w liściach wynika prawdopodobnie z szybszego zamykania aparatów szparkowych, wyższej stabilności membran komórkowych, zmienionego wzoru epidermy i zwiększonego względem odmiany wyjściowej poziomu wosków epikutikularnych na powierzchni liścia, a także szybszego niż u odmiany wyjściowej tempa zwijania blaszki liściowej. Najciekawsza jednak jest wzajemna interakcja wymienionych cech u mutantu *hvcbp20.ab*. To w jasny sposób obrazuje zależność reakcji i prawdopodobnie ich wspólny początek w ścieżce sygnałowej. Otóż, szybsze zamknięcie aparatów szparkowych zwykle determinuje obniżoną wydajność fotosyntezy, co prowadzi do zahamowania wzrostu, a w dalszej konsekwencji do śmierci organizmu roślinnego. Niemniej, u mutantu zauważono, że mimo wcześniejszego niż u odmiany wyjściowej spowolnienia procesu fotosyntezy, o czym świadczyły niższe wartości dla kalkulowanych parametrów testu OJIP, wydajność utrzymuje się na stałym poziomie do ostatniego dnia eksperymentu, podczas gdy u odmiany wyjściowej spada dopiero w końcowej fazie traktowania stresem. U mutantu zaobserwowano zdolność do bardziej efektywnego rozpraszania energii niespożytkowanej do przeprowadzenia reakcji fotochemicznych w postaci ciepła, co prawdopodobnie uchroniło komórki przed negatywnym działaniem wolnych rodników. Niemniej, unikalną cechą odnotowaną u *hvcbp20.ab* była plastyczność wzoru epidermy w warunkach stresu suszy. Dzięki analizom z wykorzystaniem skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) zauważyliśmy, że mutant po stresie suszy charakteryzował się klastrami aparatów szparkowych o zredukowanej wielkości, jednak wciąż minimalnie otwartej aperturze (względem warunków optymalnego nawodnienia) na stronie górnej liścia, natomiast na dolnej stronie liścia zauważyć można było większą liczbę aparatów szparkowych o zredukowanym rozmiarze i znacznie więcej struktur trichomopodobnych. Kiedy do opisu tych cech dodamy zwiniętą blaszkę liściową, powstaje model, który

zapewnia minimalną wymianę gazową, a przez to również fotosyntezę przy ograniczeniu transpiracji (**Rycina 2**).



Rycina 2. Schemat modelu liścia opisujący cechy morfologiczne wzoru epidermy w warunkach stresu suszy u mutantu *hvcbp20.ab* (H2: Daszkowska-Golec i in., 2017, *Frontiers in Plant Science* 8: 942)

Kolejnym etapem prac była identyfikacja genów, których działanie jest zmienione (aktywowane bądź wyciszane na poziomie regulacji transkrypcyjnej) w wyniku mutacji w genie *HvCBP20* w warunkach stresu suszy. Ten etap badań miał na celu zidentyfikowanie kluczowych genów i zarysowanie ścieżki sygnałowej, której zaburzenie w wyniku mutacji *hvcbp20.ab* prowadzi do lepszej adaptacji do stresu deficytu wody we wczesnym stadium rozwojowym jęczmienia. Niewątpliwie był to dla mnie najciekawszy etap analiz angażujący bioinformatyczną analizę danych pochodzących z eksperymentu mikromacierzowego. Przeprowadzenie tej analizy stanowiło wyzwanie metodyczne, a zarazem początek mojego zainteresowania bioinformatyką i analizami związanymi z profilowaniem ekspresji genów. Analiza zidentyfikowanych w toku prac genów o zróżnicowanej (specyficznie dla mutantu) ekspresji pozwoliła na zintegrowanie z danymi uzyskanymi z fenotypowania. Badania te umożliwiły **zdefiniowanie adaptomu mutantu *hvcbp20.ab***. Mianem adaptomu określam szereg cech fenotypowych, ale także zestaw genów o zróżnicowanej ekspresji w odpowiedzi na wczesny etap stresu suszy. Zaobserwowano podniesioną ekspresję genów, których produkty związane są z procesami regulacji syntezy komponentów wchodzących w skład pierwotnych i wtórnych ścian komórkowych (lakkazy: MLOC_22174, MLOC_69899, MLOC_61206; peroksydazy: MLOC_25875, MLOC_55157, MLOC_80183). Co ciekawe z aktywacją procesów lignifikacji ścian komórkowych u jednoliściennych skorelowane jest zwijanie blaszki liściowej, co może tłumaczyć zaobserwowane zjawisko wcześniejszego zwijania blaszki liściowej u mutantu. Ponadto już na wczesnym etapie stresu suszy indukowana jest u mutantu synteza ABA, co potwierdzono zarówno wzrostem

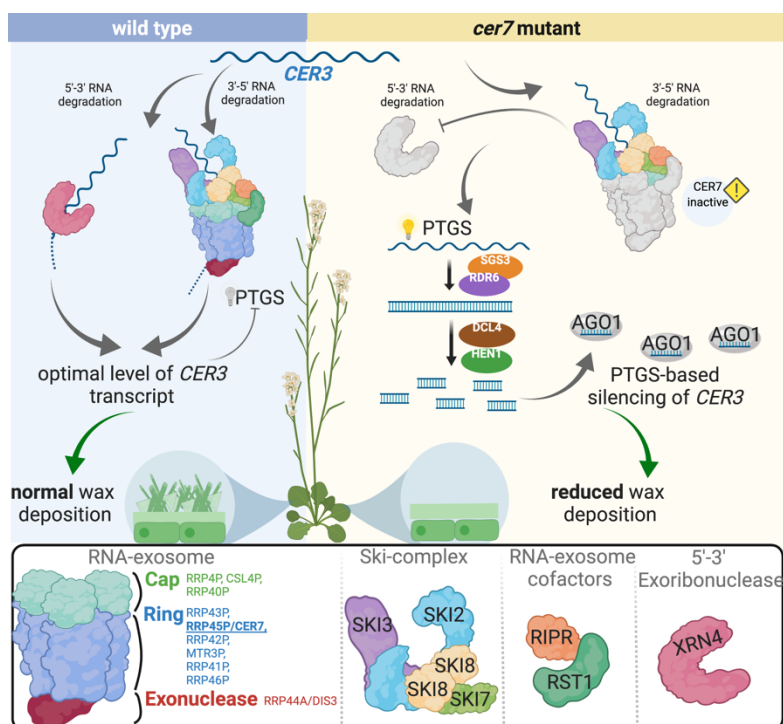
poziomu ekspresji kluczowego dla szlaku syntezy ABA genu – *NCED3* (MLOC_43893), jak i znacznie wyższą koncentracją ABA u mutantu niż u odmiany wyjściowej. Ciekawym genem, którego wzrost ekspresji odnotowano już w początkowej fazie stresu suszy jest *BAK1* (*BR1-Interacting Kinase*, MLOC_19405), kodujący istotny regulator sygnalizacji brasinosteroidów. Co ciekawe, u *Arabidopsis* *BAK1* jest zaangażowany w pozytywną regulację zamykania szparek w odpowiedzi na stres suszy poprzez regulację kinazy OST1 (Opened stomata 1). Dodatkowo – interakcja ta jest wzmocniona w obecności podniesionego poziomu ABA, który odnotowaliśmy w naszych badaniach (Shang et al., 2016; Daszkowska-Golec et al., 2017). Kolejną grupą genów, których zmieniony poziom ekspresji tłumaczyć może zaobserwowany fenotyp, były geny związane z morfogenezą struktur trichomo-podobnych. Wydaje się także, że w odpowiedzi na silny i długotrwały stres suszy w stadium siewki kluczowe dla lepszej reakcji mutantu są procesy przeciwdziałające negatywnym skutkom działania wolnych rodników, co jest szczególnie zauważalne w podniesionej ekspresji genów kodujących enzymy odpowiedzialne za detoksyfikację komórki jak np. dysmutaza ponadtlenkowa (MLOC_22278), peroksydaza glutationu (MLOC_68517). Ponadto, odnotowano podniesiony poziom ekspresji dla genów kodujących enzymy zaangażowane w poprawne fałdowanie białek, co może stanowić kluczowe mechanizmy korygujące błędy na poziomie komórkowym w reakcji na stres mutantu. Z kolei zmieniony wzór epidermy również znalazł odzwierciedlenie w badaniach transkryptomicznych, gdzie odnotowano obniżony poziom ekspresji genu *FAMA*, który u *Arabidopsis* opisany został jako kluczowy regulator procesów związanych z prawidłową morfogenezą linii komórek szparkowych (Ohashi-Ito and Bergmann, 2006). Zaburzenie we wzorze epidermy obserwowane jako klastry komórek przysparkowych u *hvcbp20.ab* może częściowo wynikać ze zmienionej ekspresji tego genu (**H2: Daszkowska-Golec i in., 2017, *Frontiers in Plant Science* 8: 942**). Zmieniony wzór epidermy u mutantu jęczmienia *hvcbp20.ab* i szczegółowe analizy obrazów pochodzących z badań z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego stanowiły punkt wyjścia do dalszych badań, związanych z woskami epikutikularnymi.

Zbadanie czy istnieje ewolucyjnie konserwowany mechanizm odpowiedzi na stres suszy u odległych genetycznie roślin dwuliściennych i jednoliściennych na przykładzie mutantów jęczmienia i *Arabidopsis* w genie *CBP20*

Analizy globalnego profilu ekspresji z wykorzystaniem mikromacierzy Agilent Barley Microarray 44K, mimo że umożliwiły odpowiedź na początkowo zadane pytania badawcze, zrodziły nowe hipotezy i zagadnienia, które badałam następnie w ramach projektu SONATA ‘Genomika translacyjna w identyfikacji mechanizmu działania signalosomu CBP20 w odpowiedzi *Arabidopsis* i jęczmienia na stres suszy’. W roku 2016 uzyskałam finansowanie na realizację projektu, który w bardziej szczegółowym ujęciu koncentrował się na działaniu CBP20 u jęczmienia i *Arabidopsis*. **Założyłam, że prowadzenie badań w oparciu o koncepcję genomiki**

translacyjnej, która opiera się na możliwości przeniesienia danych uzyskanych z zakresu genomiki z gatunku modelowego, jak np. *A. thaliana*, do oddalonego gatunku o znaczeniu agronomicznym, jakim w moim układzie doświadczalnym jest jęczmień, umożliwi zdefiniowanie istotnych mechanizmów adaptacyjnych do stresu, w które zaangażowany jest CBP20.

Uznałam za szczególnie istotne sprawdzenie **czy dodatkową barierą zapewniającą niższą utratę wody u mutantu jest zwiększony poziom wosków epikutikularnych**. Dlatego zaplanowałam szczegółowe analizy angażujące zarówno skaningową mikroskopię elektronową (SEM) ukierunkowaną na analizę morfologii struktur krystalicznych wosków, analizy składu chemicznego wosków z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii gazowej i spektrometrii mas, jak i badania mające na celu określenie poziomu ekspresji genów związanych z biosyntezą i regulacją biosyntezy wosków z wykorzystaniem wcześniej uzyskanych danych mikromacierzowych oraz analiz z zastosowaniem metody RT-qPCR (Real-Time qPCR). W wyniku analiz wykazałam **rolę CBP20 w regulacji biosyntezy wosków** na etapie powstawania związków alkanowych i aldehydowych. Co szczególnie istotne dowiodłam, że zwiększony poziom wosków o zmienionym składzie chemicznym nie tylko odgrywa znaczącą rolę w oszczędnej gospodarce wodnej mutantów w genie *CBP20*, ale wykazałam, że jest to proces silnie konserwowany ewolucyjnie (H4: **Daszkowska-Golec i in., 2020, Plant Science doi: 10.1016/j.plantsci.2020.110593**). Szczególnie interesujące jest powiązanie syntezy wosków epikutikularnych z procesami degradacji i wyciszania RNA. Choć w literaturze dostępne są przykłady analiz mutantów w genach *Arabidopsis*, które dotyczą metabolizmu RNA w kontekście syntezy wosków, to **badania nad CBP20 w tejże ścieżce znacznie poszerzają dotychczasowy stan wiedzy**. Odzwierciedleniem tego jest praca przeglądowa przygotowana na zaproszenie Edytora Trends in Plant Science (H5: **Daszkowska-Golec, 2020, Trends in Plant Science doi: doi.org/10.1016/j.tplants.2020.06.009**), w której podsumowuję obecny stan wiedzy na temat zaangażowania genów/białek związanych z metabolizmem RNA w zależne od środowiska procesy związane z syntezą wosków. Praca ta zawiera autorski oryginalny schemat ilustrujący mechanizm jaki poznano do tej pory w kontekście regulacji kluczowego genu w syntezie wosków na etapie tworzenia alkanów, które mają największy udział w składzie chemicznym wosków (**Rycina 4**).



Rycina 4. Procesy degradacji RNA i ścieżki wyciszania w regulacji ekspresji *CER3* (*ECERIFERUM 3*) w procesie biosyntezy wosków (źródło: **H5: Daszkowska-Golec, 2020, Trends in Plant Science doi:10.1016/j.tplants.2020.06.009**). U ekotypu dzikiego (wild-type) obie ścieżki degradacji RNA zachodzą prawidłowo (zarówno ścieżka 5'-3' kontrolowana przez egzorybonukleazę XRN4 oraz ścieżka 3'-5' angażująca RNA egzosom wraz z kompleksem Ski) co prowadzi do wydajnej regulacji poziomu transkryptu *CER3*. Ścieżka potranskrypcyjnego wyciszania genów (PTGS) z wykorzystaniem cząsteczek siRNA nie jest uruchamiana, więc *CER3* nie jest wyciszany, a to w konsekwencji prowadzi do normalnej depozycji wosków epikutikularnych. Natomiast u mutantu *cer7* działanie egzozosomu RNA jest zablokowane (ze względu na mutację w genie kodującym podjednostkę RRP45P/CER7). Niemniej, wcześniejsze związanie transkryptu *CER3* z kompleksem Ski skutecznie blokuje jego możliwość degradacji na drodze 5'-3' regulowanej przez XRN4. Stąd akumulacja transkryptów *CER3* musi być regulowana w komórce i jest to możliwe przez produkcję siRNA prowadzących do wyciszenia *CER3*, co finalnie skutkuje defektem w depozycji wosków u mutantu *cer7*. Model ten opracowano na podstawie raportów (Zhao and Kunst, 2016; Lange et al., 2019). Rycina przygotowana z wykorzystaniem BioRender (<https://biorender.com/>).

Podsumowując, fenotyp mutantu w genie *CBP20* u *Arabidopsis* i jęczmienia stanowi efekt działania wielu warstw regulacji, które mają wspólny początek – kompleks CBC aktywowany sygnałem stresu suszy. Co ciekawe, żaden z genów kodujących podjednostki CBC nie jest indukowany stresem ani ABA (**H4: Daszkowska-Golec i in., 2020, Plant Science doi:10.1016/j.plantsci.2020.110593**; (Kim et al., 2008). Najbardziej prawdopodobne jest, że dochodzi do post-translacyjnej regulacji aktywności białka *CBP20* lub/i *CBP80* w odpowiedzi na stres, co z kolei tłumaczyć może selektywne działanie *CBP20* (i *CBP80*) w modulowaniu tejże reakcji. Wydaje się, że działanie to dotyczy konkretnej puli genów, ulegających alternatywnemu splicingowi, a przez to zróżnicowanej ekspresji. Mikromacierze ekspresyjne Agilent Barley Microarray 44K nie pozwalają na dogłębną analizę tego mechanizmu, stąd zdecydowałam się na zastosowanie wysokoprzepustowego sekwencjonowania transkryptomu (RNA-seq) i analizę izoform splicingowych w odpowiedzi na stres. Wyniki uzyskane z tych analiz stanowią będą przedmiot przygotowywanego obecnie manuskryptu we współpracy z Dr. Martinem Mascherem (IPK, Gatersleben) i z pewnością rzucą nowe światło na regulację odpowiedzi na stres suszy przez

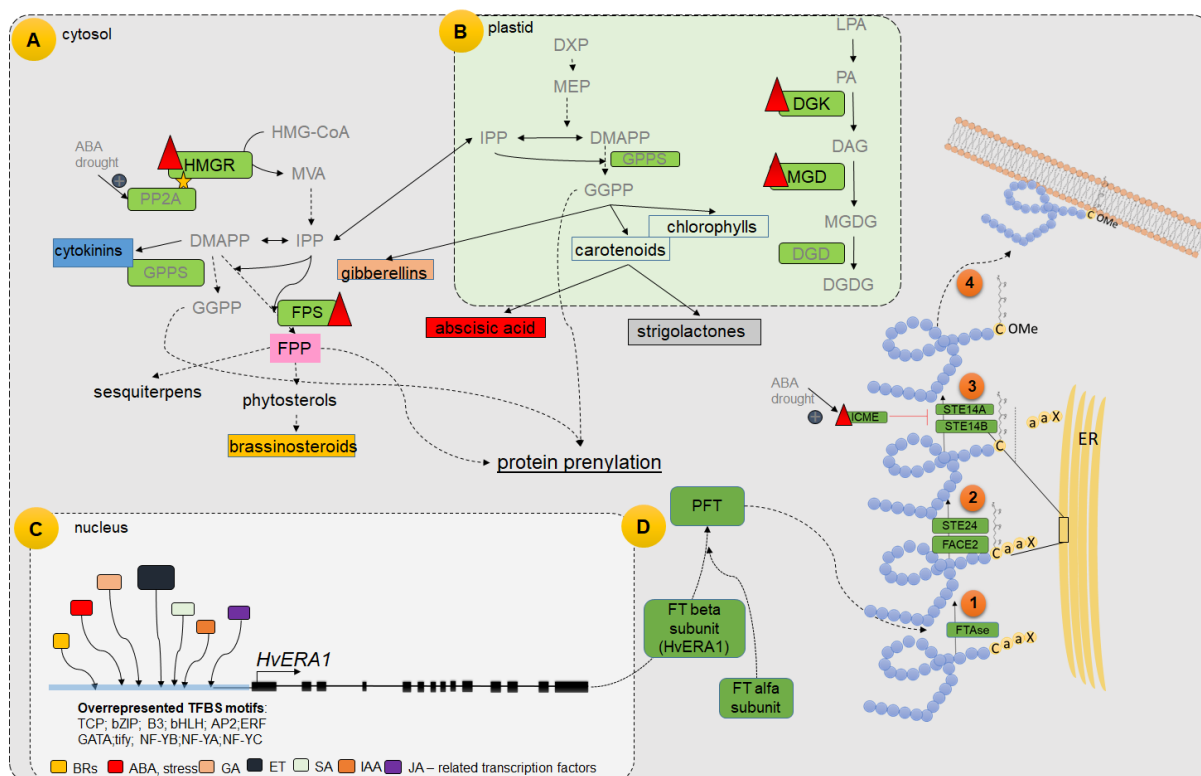
CBP20. Biorąc pod uwagę pleiotropowy efekt mutacji w genie *CBP20* oraz zaangażowanie we wcześniej wzmiankowany metabolizm RNA uznałam za konieczne usystematyzowanie wiedzy w tym zakresie, co uczyniłam przygotowując publikację przeglądową (**H3: Daszkowska-Golec, 2018, Plant Physiology 176: 242-253**). W pracy tej oprócz zestawienia aktualnych danych na temat molekularnej roli podjednostek budujących kompleks CBC, opisałam również doniesienia dokumentujące fenotyp mutantów roślinnych ze szczególnym uwzględnieniem reakcji na ABA i stres abiotyczny. Sformułowałam również pytania badawcze jakie warto podjąć by zrozumieć molekularną rolę kompleksu CBC w odpowiedzi na stres u roślin. Najpilniejszym spośród nich, w mojej ocenie, jest zdefiniowanie miejsca CBC w sieci sygnałowej w reakcji na stres suszy. Obecnie prowadzę również analizy transkryptomyczne z wykorzystaniem niedawno zidentyfikowanego w naszym zespole mutantu jęczmienia w genie *CBP80*, który podobnie jak *hvcbp20.ab*, cechuje się lepszą odpowiedzią na stres deficytu wody. Pragnę także dodać, że badania dotyczące mutantu w genie *CBP20* spotkały się z dużym zainteresowaniem mediów i społeczeństwa o czym świadczą materiały prasowe i radiowe (stosowne zestawienie znajduje się w punkcie 5c niniejszego dokumentu) oraz Nagrodą Inteligentnego Rozwoju w kategorii Naukowiec Przyszłości w roku 2020 przyznaną przez Forum Inteligentnego Rozwoju.

Szczegółowe poznanie wpływu mutacji w genie *HvERA1*, kodującym negatywny regulator sygnalizacji kwasu abscysynowego, u jęczmienia w warunkach stresu suszy

Pierwszym etapem badań związanym z analizą funkcjonalną genu *ERA1* u jęczmienia była identyfikacja homologa i jego sklonowanie. Kolejnym etapem, podobnie jak w przypadku badań nad genem *HvCBP20* było poszukiwanie mutacji w obrębie sekwencji genomowej z wykorzystaniem metody TILLING. Amplikon wybrany do analiz dotyczył fragmentu kodującego katalityczną domenę beta-podjednostki farnesylotransferazy, co przełożyło się na identyfikację mutacji o znacznym wpływie na funkcjonalność białka wg predykcji *in silico*. W wyniku mutacji *hvera1.b* doszło do substytucji glicyny do glutaminianu w pozycji 188. białka (G188D). Co ciekawe, aminokwas sąsiadujący z G188 – glicyna w pozycji 189. jest zaangażowany w bezpośredni kontakt z alfa-podjednostką (FTA) kompleksu. Efektem mutacji, jak wykazały nasze analizy z wykorzystaniem modelowania przestrzennego struktury *HvERA1*, jest zmiana właściwości fizykochemicznych regionu białka FTB (mniejsza hydrofilowość i ujemny ładunek) wchodzącego w interakcję z FTA, co może wpływać na poprawne działanie kompleksu, który jak dowiedziono, pełni swoją funkcję tylko w postaci heterodimeru składającego się z alfa- i beta-podjednostki (**H6: Daszkowska-Golec, 2018, Environmental and Experimental Botany, 148: 12-26**).

Biorąc pod uwagę odpowiedź na ABA w przypadku opisanych w literaturze mutantów *Arabidopsis*, kolejnym etapem analiz było sprawdzenie wrażliwości mutantu *hvera1.b* na kwas abscysynowy w czasie kiełkowania nasion. **Wykazaliśmy, że mutacja w genie *HvERA1* powoduje zwiększoną wrażliwość na ABA w czasie kiełkowania, dowodząc tym samym podobnej funkcjonalności genu jęczmienia do opisanego homologa u *Arabidopsis*.** Kiedy mutant

hvera1.b został poddany stresowi suszy w stadium siewki, wg temu samego protokołu co wcześniej opisany dla mutantu w genie *HvCBP20*, okazało się, że względna zawartość wody w liściu (RWC) jest o 25% wyższa niż w przypadku odmiany wyjściowej. Najciekawsze jednak wyniki przyniosła analiza wydajności fotosyntetycznej. Fotosynteza jest procesem, który w wyniku zmian metabolicznych wywołanych stresem, zamknięcia aparatów szparkowych, aktywności wolnych rodników ulega znacznemu zahamowaniu w warunkach stresu suszy. U mutantu *hvera1.b* jednak wszystkie badane parametry jasno wskazywały, że proces fotosyntezy zachodzi równie wydajnie co w warunkach optymalnego nawodnienia. Wyniki te były przeciwieństwem obserwacji poczynionych dla odmiany wyjściowej 'Sebastian' (WT). Analizy transkryptomu drugiego liścia, prowadzone dzięki technologii mikromacierzy ekspresyjnych Agilent Barley Microarray 44K, umożliwiły identyfikację genów, których zróżnicowana ekspresja przekłada się na obserwowany fenotyp *hvera1.b*. Okazuje się, że po stresie suszy u mutantu aktywowane są geny związane z metabolizmem galaktolipidów, które stanowią główny komponent błon chloroplastowych (**Rycina 5**). Wynik ten wraz z danymi z analiz fizjologicznych pozwolił na wnioskowanie, że **farnezyłacja może być procesem negatywnie regulującym syntezę galaktolipidów w odpowiedzi na stres suszy**. Niemniej, mimo analizy potencjalnych białek docelowych dla działania farnezylotransferazy w obrębie białek kodowanych przez geny o zróżnicowanej ekspresji, nie zidentyfikowano ich w zestawie genów związanych z metabolizmem lipidów. Wyniki te przyniosły jednak interesujący materiał do dalszych badań w postaci genów kodujących kilka białek zaangażowanych w sygnalizację ABA, jak np. DDB1-and CUL4-associated factor (MLOC_57514) i IC MEL2 (Probable isoprenylcysteine alpha-carbonyl methylesterase, MLOC_8022) (**H6: Daszkowska-Golec, 2018, *Environmental and Experimental Botany*, 148: 12-26**).



Rycina 5. Schemat ilustrujący dane uzyskane z badań transkryptomu mutantu *hvera1.b* oraz analiz *in silico* sekwencji promotorowej *HvERA1*. (A) Ścieżka kwasu mewalunowego (MVA): HMG-CoA – Hydroxymetylglutaryl-CoA synthase; HMGR – Hydroxymetylglutaryl-CoA reductase; PP2A – Protein Phosphatase 2A; MVA – Mevalonic Acid; DMAPP – dimethylallyl pyrophosphate; IPP – isopentenyl pyrophosphate; GGPP – Geranylgeranyl pyrophosphate; GPPS – Geranyl diphosphate synthase; FPS – Farnesyl pyrophosphate synthase; FPP – Farnesyl pyrophosphate. (B) Ścieżka MEP i syntezy galaktolipidów: DXP – 1-Deoxy-D-xylulose 5-phosphate; MEP – metylerytrytol 4-phosphate; DAG – Diacylglycerol; PA – Phosphatidic acid; DGK – Diacylglycerol kinase; MGD – monogalactosyl diacylglycerol; MGDG – Monogalactosyldiacylglycerol; DGD – Digalactosyldiacylglycerol. (C) Analiza sekwencji promotorowej genu *HvERA1* w kontekście motywów rozpoznawanych przez czynniki transkrypcyjne zaangażowane w regulację ścieżek sygnałowych kluczowych fitohormonów: TCP – TEOSINTE BRANCHED 1; bZIP – basic leucine zipper; B3–B3 domain transcription factor; bHLH – basic helix-loop-helix; AP2; ERF – Apetala 2; Ethylene Responsive Factor; GATA;tify – GATA-type zinc finger in addition to the tify domain; NF-YB;NF- YA;NF-YC – NF-YB;NF-YA;NF-YC transcription factor; BRs – brasinosteroidy; ABA – kwas abscysynowy; GAs – gibereliny; ET – etylen; SA – kwas salicylowy; IAA – auksyna; JA – kwas jasmonianowy. Czerwone trójkąty oznaczają podniesiony poziom ekspresji na podstawie analizy transkryptomu *hvera1.b* po 10-dniowym stresie suszy w odniesieniu do kontroli. (D) Proces farnestyacji: PFT – protein farnesyl transferase; FACE2 – FARNESYLATED PROTEIN-CONVERTING ENZYME 2; STE24–CaaX PRENYL PROTEASE 1; STE14 B – ISOPRENYL CYSTEINE METHYLTRANSFERASE 14B; STE14A – ISOPRENYL CYSTEINE METHYLTRANSFERASE 14A; ICME – ISOPRENILCYSTEINE METHYLESTERASE; OMe – metylacja; ER – reticulum endoplazmatyczne.

Co ciekawe, u *Arabidopsis* homolog ICME2 katalizuje hydrolizę estrów metylowych isoprenylcysteiny w czasie procesu farnestyacji, a jego nadekspresja prowadzi do nadwrażliwości na ABA w czasie kiełkowania nasion i odpowiedzi aparatów szparkowych (Huizinga et al., 2008).

W kontekście badań nad procesem farnestyacji pełne poznanie mechanizmu tego procesu może w pewnym stopniu zależeć od zrozumienia zależności między metylacją i demetylacją izoprenylcysteiny, jak postulują badacze. Wyniki uzyskane przez nas w toku analiz mają szansę przyczynić się do rozwiązania tego problemu u gatunków uprawnych.

Dalsze analizy są już w toku i ukierunkowane są na badanie zawartości galaktolipidów oraz analizę ultrastruktury chloroplastów, odpowiednio we współpracy z dr. Tomaszem Płociniczakiem (Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski) i dr. Michaeliem Melzerem (IPK,

Niemcy). Ponadto, do Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (NAWA) w ramach programu Ulama został złożony wniosek na staż podoktorski dla dr Pirko Jalakas z zespołu Prof. Hannesa Kollista (University of Tartu, Estonia), której wkład w poznanie sygnalizacji zależnej od *era1* u *Arabidopsis* jest udokumentowany licznymi publikacjami. W naszym zespole pod moją opieką planuje ona realizować dalsze analizy, tym razem z wykorzystaniem mutantów jęczmienia w tym genie. Wniosek został rekomendowany do finansowania przez NAWA, a staż podoktorski Dr. Jalakas rozpocznie się w maju 2021 roku.

Określenie podstaw molekularnych procesu fotosyntezy u jęczmienia jarego w warunkach stresu suszy w oparciu o badanie transkryptomyczne

Kontynuacją badań związanych z wynikami dotyczącymi procesu fotosyntezy mutantu *hvera1.b* było podjęcie próby identyfikacji genów jęczmienia kodujących kluczowe dla tego procesu białka, zarówno strukturalne budujące fotosystemy, jak i regulacyjne. Biorąc pod uwagę fakt, że zrównoważony proces fotosyntezy w warunkach stresu suszy przyczynić się może do zapewnienia pożądanej biomasy i plonu roślin uprawnych, kluczowe wydaje się, by w obliczu zmian klimatycznych szczegółowo poznać podstawy genetyczne procesu fotosyntezy.

Podjęłam próbę opisu tego zjawiska w warunkach stresu deficytu wody i reakcji na ABA u trzech odmian jęczmienia jarego: odmian europejskich 'Sebastian', 'Maresi' oraz syryjskiej 'Cam/B1/C1'. 'Sebastian' to odmiana wykorzystywana w naszym zespole z uwagi na wyprowadzoną w jej tle genetycznym populację TILLING, natomiast odmiany 'Maresi' i 'Cam/B1/C1' to odmiany opisane jako charakteryzujące się kontrastową reakcją na stres suszy (Filek et al., 2016; Gudys et al., 2018; Janiak et al., 2018). Oprócz szczegółowej analizy fizjologicznej procesu fotosyntezy, zastosowałam analizę globalnego profilu ekspresji genów z wykorzystaniem zarówno mikromacierzy ekspresyjnych Agilent Barley Microarrays 44K, jak również wysokoprzepustowego sekwencjonowania transkryptomu (RNA-seq) drugiego liścia roślin jednej z tych odmian (odmiany 'Sebastian') poddanych stresowi suszy. Ta druga metoda umożliwiła identyfikację znacznie większej liczby genów. Analiza danych pochodzących z RNA-seq jasno wykazała, że najbardziej istotnym statystycznie procesem biologicznym dla genów o obniżonej ekspresji w wyniku działania stresu suszy jest proces fotosyntezy. Wyniki te dostarczyły informacji na temat odpowiedzi na stres komponentów strukturalnych fotosystemów kluczowych dla procesu fotosyntezy, ale również enzymów katalizujących reakcje istotne dla tego procesu. Kolejno, dzięki zastosowaniu analizy adnotacji bazującej na sekwencjach ortologicznych, możliwe było szczegółowe przypisanie funkcji analizowanym genom o zróżnicowanej ekspresji, co w efekcie **umożliwiło zidentyfikowanie łącznie 147 genów**, w tym: kodujących podjednostki fotosystemu II (34 geny), podjednostki fotosystemu I (20 genów), komponenty łańcucha przenośników elektronów (7 genów), składniki kompleksu cytochromalnego (4 geny), podjednostki ATPazy (22 geny), białka antenowe (21 genów), enzymy katalizujące reakcje cyklu Calvina (33 geny). **Najważniejszym wynikiem uzyskanym w toku analiz jest fizjologiczny i genetyczny obraz funkcjonowania**

fotosystemów w warunkach stresu suszy, z zaznaczeniem wczesnego stadium reakcji na stres, jak i odpowiedzi po 10-dniowym silnym stresie suszy u jęczmienia jarego. Wykorzystując narzędzia bioinformatyczne, umożliwiające identyfikację genów kodujących czynniki transkrypcyjne w zestawie genów o zróżnicowanej ekspresji, zidentyfikowano kluczowe czynniki transkrypcyjne, których ekspresja modulowana jest stresem suszy u jęczmienia. Kolejne pytanie badawcze, na które szukałam odpowiedzi dotyczyło tego czy w obrębie zidentyfikowanych czynników transkrypcyjnych są kluczowe dla regulacji tych genów związanych z fotosyntezą, które zidentyfikowałam w czasie analizy różnicowej ekspresji. W tym celu przeprowadziłam analizę regionów promotorowych dla 147 genów związanych z fotosyntezą pod kątem identyfikacji motywów cis-regulatorowych rozpoznawanych przez czynniki transkrypcyjne (*Transcription Factor Binding Sites, TFBS*). Zintegrowanie danych dotyczących czynników transkrypcyjnych oraz specyficznych dla nich *TFBS* zidentyfikowanych w toku analiz promotorów **umożliwiło identyfikację 17 par regulatorowych ‘czynnik transkrypcyjny – gen’**. Ich funkcjonowanie w warunkach stresu przekładać się może na regulację procesu fotosyntezy przez bezpośrednie działanie na ekspresję genów związanych z tym procesem, a co za tym idzie, być może na lepszą adaptację jęczmienia jarego do niesprzyjających warunków środowiska (**H7: Daszkowska-Golec i in., 2019, International Journal of Molecular Sciences, 20, 6341**).

Sprawdzenie związku między działaniem szlaku sygnałowego ABA i innych fitohormonów w warunkach stresu suszy u jęczmienia i Arabidopsis

O znaczeniu strigolaktonów (SL) w odpowiedzi na stres wiadomo stosunkowo niewiele. Badania prowadzone u *Arabidopsis* w warunkach deficytu wody przyniosły sprzeczne informacje. W badaniach Ha i współpracowników (Ha et al, 2014) zarówno mutanty syntezy SL *max3* i *max4* oraz signalingu *max2* wykazywały wrażliwość na stres, podczas gdy Bu i współpracownicy (Bu et al., 2014) wykazali, że tylko mutant signalingu wykazuje wrażliwość, podczas gdy mutanty syntezy nie różniły się od ekotypu dzikiego. Kolejne badania z wykorzystaniem mutantów sygnalizacji i syntezy SL u ryżu nie zdefiniowały w sposób jednoznaczny zaangażowania SL w interakcję z ABA, a także w odpowiedź na stres suszy (Haider et al., 2018).

Mając na uwadze znaczenie genu *D14 (DWARF14)*, który koduje jedyny i specyficzny wyłącznie dla SL receptor (Marzec and Brewer, 2019), w celu odpowiedzi na pytanie czy *strigolaktony są zaangażowane w odpowiedź na stres suszy i interakcję z ABA* przeprowadziliśmy badania nad mutantem jęczmienia *hvd14.d* wcześniej zidentyfikowanym w zespole Katedry Genetyki UŚ (obecnie Zespół Genetyki i Genomiki Funkcjonalnej Roślin, UŚ) (Marzec et al., 2016). W doświadczeniu jako obiekt badań wykorzystaliśmy mutant jęczmienia jarego, ale również oddalonego filogenetycznie mutantu *d14 Arabidopsis*. Założyliśmy, że uzyskanie zbieżnych informacji z obu gatunków pozwoli nam na jednoznaczne stwierdzenie o zaangażowaniu SL, bądź jego braku, w szlak odpowiedzi na stres suszy. **Wykazaliśmy, że mutacja w genie kodującym receptor SL powoduje wrażliwość na stres suszy**, która przejawia się szybszym tempem utraty

wody, wynikającym prawdopodobnie z opóźnienia reakcji aparatów szparkowych, a także cieńszej warstwy kutikuli niż u odmiany wyjściowej 'Sebastian'. Działanie stresu u mutantów obu gatunków doprowadziło do znacznego obniżenia wydajności fotosyntezy, a prawdopodobnie wtórny stres spowodowany nagromadzeniem wolnych rodników wywołał zmiany degeneracyjne w chloroplastach. Najciekawsze jednak było zbadanie podstaw molekularnych zaobserwowanych cech fenotypowych. Postanowiliśmy wykorzystać w tym celu panel genów związanych z wczesnym signalingiem ABA (receptory, fosfatazy, kinazy) oraz syntezą tego fitohormonu. Jednocześnie **dowiedliśmy, że mutacja *hvd14.d* wpływa na podniesiony poziom ekspresji genów związanych z biosyntezą kwasu abscysynowego**. Ten wynik nie koreluje jednak z danymi dotyczącymi koncentracji ABA i jego metabolitów w tkankach liścia poddanego stresowi dehydratacji. Co ciekawe, analiza ekspresji genów kodujących kluczowe komponenty sygnalizacji ABA, jak receptory (*HvPYL4*, *HvPYL5*), fosfatazy (*HvPP2C4*) i kinazy (*HvSnRK2.1*) wykazała podobną tendencję w kontekście poziomu ekspresji zarówno u odmiany dzikiej, jak i mutantu. Wynik ten jasno wskazuje, że mutacja *hvd14.d* prowadzi do niewrażliwości na ABA, ponieważ u mutantu mimo podniesionej aktywności genów związanych z biosyntezą ABA nie dochodzi do wydajnej aktywacji sygnalizacji ABA, która jest niezbędna w prawidłowym przekazywaniu sygnału związanego z odpowiedzią na stres deficytu wody. Dalsze badania z pewnością umożliwią zdefiniowanie komponentów szlaku zależności molekularnych, które wpływają na modulację odpowiedzi na stres poprzez interakcję szlaków sygnałowych i syntezy SL i ABA (H8: Marzec, Daszkowska et al., 2020, *Plant, Cell and Environment*, 1-15).

d. NAJWAŻNIEJSZE REZULTATY I WNIOSKI WYNIKAJĄCE Z PRZEPROWADZONYCH BADAŃ WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO:

1. **Szczegółowe zbadanie efektu mutacji w genie *HvCBP20*, kodującym negatywny regulator sygnalizacji kwasu abscysynowego, w warunkach stresu suszy u jęczmienia**
 - o wykazanie wysokiego poziomu konserwowalności CBP20 zarówno w kontekście sekwencji genomowej i aminokwasowej, ale także utrwalonej ewolucyjnie funkcji w odpowiedzi na ABA i stres suszy, co jasno wskazuje na potencjał wykorzystania tej wiedzy również u innych gatunków niż badane w ramach omówionych prac
 - o zdefiniowanie adaptomu mutantu *hvcbp20.ab*, na który składają się cechy fenotypowe i zestaw genów o zróżnicowanej ekspresji stanowiące wyposażenie w lepszej adaptacji do warunków stresu suszy u jęczmienia
 - o wykazanie, że wyższy poziom wosków epikutikularnych i ich zmieniony skład chemiczny w odpowiedzi na stres suszy jest cechą konserwowaną ewolucyjnie i zależną od mutacji w genie *CBP20*, a zmiany w poziomie ekspresji genów związanych z biosyntezą wosków na drodze formowania alkanów i aldehydów przekładają się na obserwowany u *hvcbp20.ab* fenotyp i co za tym idzie, umożliwiają sformułowanie wniosku o regulacji tego etapu syntezy wosków na drodze zależnej od *CBP20*.

Uzyskane wyniki stanowiły istotny wkład w trakcie aplikowania o finansowanie kolejnego projektu badawczego w konsorcjum międzynarodowym. Podjęte działania zakończyły się sukcesem i od listopada 2019 kieruję badaniami polskiego zespołu realizującego razem z 12 partnerami z 8 krajów Europy projekt BARISTA: Zaawansowane narzędzia służące zintensyfikowanej i zrównoważonej uprawie jęczmienia w obliczu zmian klimatycznych (projekt międzynarodowy finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach pierwszego konkursu programu ERA-NET COFUND SusCrop finansowanego w ramach programu ramowego HORIZONT 2020 na rzecz badań i innowacji (No 771134)).

2. Wykazanie związku między funkcjonowaniem genu *HvERA1*, kodującym negatywny regulator sygnalizacji kwasu abscysynowego, u jęczmienia a procesem fotosyntezy w warunkach stresu suszy

- o wykazanie wysokiego stopnia konserwowania genu *ERA1* zarówno w kontekście sekwencji genomowej i aminokwasowej, ale także utrwalonej ewolucyjnie funkcji w odpowiedzi na ABA i stres suszy
- o wskazanie, że farnezyllacja może być procesem negatywnie regulującym syntezę galaktolipidów w odpowiedzi na stres suszy, co u mutantu w genie *ERA1* zapewnia lepszą wydajność fotosyntezy, a to z kolei przekłada się na lepszą adaptację do stresu suszy

Uzyskane wyniki stanowiły istotny wkład w staranie się o finansowanie projektu BARISTA, o którym wspominam powyżej. Dodatkowo nawiązana w ramach projektu BARISTA współpraca z grupą Prof. Hannesa Kollista i Dr. Ebe Merilo, a także zainteresowanie obu stron sygnalizacją ABA zależną od *ERA1*, zaowocowały wspólnymi planami badawczymi, które realizować będzie w Zespole Genetyki i Genomiki Funkcjonalnej Roślin UŚ Dr. Pirko Jalakas w ramach stażu podoktorskiego NAWA w programie Ulama od maja 2021 roku.

3. Zidentyfikowanie podstaw molekularnych procesu fotosyntezy u jęczmienia jarego w warunkach stresu suszy w oparciu o badanie transkryptomyczne

- o opracowanie unikalnego fizjologicznego i genetycznego obrazu funkcjonowania fotosystemów w warunkach stresu suszy z zaznaczeniem wczesnego stadium reakcji na stres, jak i odpowiedzi po 10-dniowym silnym stresie suszy
- o identyfikacja 147 genów jęczmienia kodujących zarówno elementy strukturalne fotosystemów, łańcucha elektronów, jak i enzymy katalizujące reakcje istotne dla procesu fotosyntezy
- o wskazanie 17 potencjalnych par regulatorowych 'czynnik transkrypcyjny – gen związany z procesem fotosyntezy', których funkcjonowanie w warunkach stresu suszy przekładać się może na lepszą adaptację do niesprzyjających warunków środowiska u jęczmienia jarego

4. Wykazanie związku między działaniem szlaku ABA-zależnej odpowiedzi na suszę a sygnalizacją strigolaktonów

- o wykazanie, że mutacja w jęczmiennym genie *D14*, kodującym receptor strigolaktonów, powoduje niewrażliwość na ABA w czasie kiełkowania nasion, ale wrażliwość na stres suszy
- o wysunięcie hipotezy o niewrażliwości mutantu *hvd14.d* na ABA. Mimo podniesionej aktywności genów związanych z biosyntezą ABA u mutantu nie dochodzi do wydajnej aktywacji sygnalizacji ABA, która jest niezbędna w prawidłowym przekazywaniu sygnału związanego z odpowiedzią na stres deficytu wody

Literatura

- Bowles AMC, Bechtold U, Paps J** (2020) The Origin of Land Plants Is Rooted in Two Bursts of Genomic Novelty. *Curr Biol* **30**: 530-536.e2
- Bu Q, Lv T, Shen H, Luong P, Wang J, Wang Z, Huang Z, Xiao L, Engineer C, Kim TH, et al** (2014) Regulation of drought tolerance by the F-box protein MAX2 in Arabidopsis. *Plant Physiol* **164**: 424–39
- Cardoso AA, McAdam SAM** (2019) Misleading conclusions from exogenous ABA application: a cautionary tale about the evolution of stomatal responses to changes in leaf water status. *Plant Signal Behav* **14**: 1–6
- Cutler S, Ghassemian M, Bonetta D, Cooney S, McCourt P** (1996) A protein farnesyl transferase involved in abscisic acid signal transduction in Arabidopsis. *Science* (80-) **273**: 1239–1241
- Daszkowska-Golec A** (2011) Arabidopsis seed germination under abiotic stress as a concert of action of phytohormones. *OMICS* **15**: 763–74
- Daszkowska-Golec A, Skubacz A, Kurowska M, Słota M, Swiergolik D, Szarejko I** (2019) Methods for the Simple and Reliable Assessment of Barley Sensitivity to Abiotic Stresses During Early Development. *In* WA Harwood, ed, *Barley Methods Protoc*. Springer, pp 127–151
- Daszkowska-Golec A, Skubacz A, Marzec M, Słota M, Kurowska M, Gajecka M, Gajewska P, Płociniczak T, Sitko K, Pacak A, et al** (2017) Mutation in HvCBP20 (Cap binding protein 20) adapts barley to drought stress at phenotypic and transcriptomic levels. *Front Plant Sci* **8**: 1–24
- Daszkowska-Golec A, Wojnar W, Rosikiewicz M, Szarejko I, Maluszynski M, Szweykowska-Kulinska Z, Jarmolowski A** (2013) Arabidopsis suppressor mutant of *abh1* shows a new face of the already known players: ABH1 (CBP80) and ABI4-in response to ABA and abiotic stresses during seed germination. *Plant Mol Biol* **81**: 189–209
- Filek M, Łabanowska M, Kurdziel M, Weselucha-Birczyńska A, Bednarska-Kozakiewicz E** (2016) Structural and biochemical response of chloroplasts in tolerant and sensitive barley genotypes to drought stress. *J Plant Physiol* **207**: 61–72
- Fujii H, Chinnusamy V, Rodrigues A, Rubio S, Antoni R, Park S-Y, Cutler SR, Sheen J, Rodriguez PL, Zhu J-K** (2009) In vitro reconstitution of an abscisic acid signalling pathway. *Nature* **462**: 660–664
- Gudys K, Guzy-wrobelska J, Janiak A, Dxiurka MA, Ostrowska A, Hura K, Jurczyk B, Zmuda K, Grzybkwaska D, Srobka J, et al** (2018) Prioritization of Candidate Genes in QTL Regions for Physiological and Biochemical Traits Underlying Drought Response in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Front Plant Sci* **9**: 1–26
- Haider I, Andreo-Jimenez B, Bruno M, Bimbo A, Floková K, Abuauf H, Ntui VO, Guo X, Charnikhova T, Al-Babili S, et al** (2018) The interaction of strigolactones with abscisic acid during the drought response in rice. *J Exp Bot* **69**: 2403–2414
- Hubbard KE, Nishimura N, Hitomi K, Getzoff ED, Schroeder JI** (2010) Early abscisic acid signal transduction mechanisms: Newly discovered components and newly emerging questions. *Genes Dev* **24**: 1695–1708
- Hugouvieux V, Kwak JM, Schroeder JI** (2001) An mRNA cap binding protein, ABH1, modulates early abscisic acid signal transduction in Arabidopsis. *Cell* **106**: 477–487
- Hugouvieux V, Murata Y, Young JJ, Kwak JM, Mackesy DZ, Schroeder JI** (2002) Localization, ion channel regulation, and genetic interactions during abscisic acid signaling of the nuclear mRNA cap-binding protein, ABH1. *Plant Physiol* **130**: 1276–1287
- Huizinga DH, Omosogbon O, Omery B, Crowell DN** (2008) Isoprenylcysteine Methylation and Demethylation Regulate Abscisic Acid Signaling in Arabidopsis. *Plant Cell* **20**: 2714–2728
- Jäger K, Fábian A, Tompa G, Deák C, Höhn M, Olmedilla A, Barnabás B, Papp I** (2011) New phenotypes of the drought-tolerant *cbp20* Arabidopsis thaliana mutant have changed epidermal morphology. *Plant Biol* **13**: 78–84
- Janiak A, Kwasniewski M, Sowa M, Gajek K, Żmuda K, Kościelniak J, Szarejko I** (2018) No Time to Waste:

- Transcriptome Study Reveals that Drought Tolerance in Barley May Be Attributed to Stressed-Like Expression Patterns that Exist before the Occurrence of Stress. *Front Plant Sci.* doi: 10.3389/fpls.2017.02212
- Kierzkowski D, Kmiecik M, Piontek P, Wojtaszek P, Szweykowska-Kulinska Z, Jarmolowski A** (2009) The Arabidopsis CBP20 targets the cap-binding complex to the nucleus, and is stabilized by CBP80. *Plant J* **59**: 814–825
- Kim S, Yang JY, Xu J, Jang IC, Prigge MJ, Chua NH** (2008) Two cap-binding proteins CBP20 and CBP80 are involved in processing primary microRNAs. *Plant Cell Physiol* **49**: 1634–1644
- Lange H, Ndecky SYA, Gomez-Diaz C, Pflieger D, Butel N, Zumsteg J, Kuhn L, Piermaria C, Chicher J, Christie M, et al** (2019) RST1 and RIPR connect the cytosolic RNA exosome to the Ski complex in Arabidopsis. *Nat Commun.* doi: 10.1038/s41467-019-11807-4
- Manmathan H, Shaner D, Snelling J, Tisserat N, Lapitan N** (2013) Virus-induced gene silencing of Arabidopsis thaliana gene homologues in wheat identifies genes conferring improved drought tolerance. *J Exp Bot* **64**: 1381–1392
- Marzec M, Brewer P** (2019) Binding or Hydrolysis? How Does the Strigolactone Receptor Work? *Trends Plant Sci* **24**: 571–574
- Marzec M, Gruszka D, Tylec P, Szarejko I** (2016) Identification and functional analysis of the HvD14 gene involved in strigolactone signaling in *Hordeum vulgare*. *Physiol Plant* **158**: 341–355
- Marzec M, Melzer M, Szarejko I** (2015) Root Hair Development in the Grasses: What We Already Know and What We Still Need to Know. *Plant Physiol* **168**: 407–414
- Mazza C, Segref A, Mattaj IW, Cusack S** (2002) Large-scale induced fit recognition of an m7GpppG cap analogue by the human nuclear cap-binding complex. *EMBO J* **21**: 5548–5557
- McAdam SAM, Brodribb TJ, Banks JA, Hedrich R, Atallah NM, Cai C, Geringer MA, Lind C, Nichols DS, Stachowski K, et al** (2016) Abscisic acid controlled sex before transpiration in vascular plants. *Proc Natl Acad Sci U S A* **113**: 12862–12867
- Melcher K, Ng LM, Zhou XE, Soon FF, Xu Y, Suino-Powell KM, Park SY, Weiner JJ, Fujii H, Chinnusamy V, et al** (2009) A gate-latch-lock mechanism for hormone signalling by abscisic acid receptors. *Nature* **462**: 602–608
- Morris JL, Puttick MN, Clark JW, Edwards D, Kenrick P, Pressel S, Wellman CH, Yang Z, Schneider H, Donoghue PCJ** (2018) The timescale of early land plant evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* **115**: E2274–E2283
- Ogata T, Nagatoshi Y, Yamagishi N, Yoshikawa N, Fujita Y** (2017) Virus-induced down-regulation of GmERA1A and GmERA1B genes enhances the stomatal response to abscisic acid and drought resistance in soybean. *PLoS One* **12**: 1–16
- Ohashi-Ito K, Bergmann DC** (2006) Arabidopsis FAMA controls the final proliferation/differentiation switch during stomatal development. *Plant Cell* **18**: 2493–2505
- Papp I, Mur L a., Dalmadi Á, Dulai S, Koncz C** (2004) A mutation in the Cap Binding Protein 20 gene confers drought tolerance to Arabidopsis. *Plant Mol Biol* **55**: 679–686
- Pieczynski M, Marczewski W, Hennig J, Dolata J, Bielewicz D, Piontek P, Wyrzykowska A, Krusiewicz D, Strzelczyk-zyta D, Konopka-postupolska D, et al** (2012) Down-regulation of CBP80 gene expression as a strategy to engineer a drought-tolerant potato. 1–11
- Raissig MT, Matos JL, Gil MXA, Kornfeld A, Bettadapur A, Abrash E, Allison HR, Badgley G, Vogel JP, Berry JA, et al** (2017) Mobile MUTE specifies subsidiary cells to build physiologically improved grass stomata. *Science* (80-) **355**: 1215–1218
- Santiago J, Rodrigues A, Saez A, Rubio S, Antoni R, Dupeux F, Park SY, Márquez JA, Cutler SR, Rodriguez PL** (2009) Modulation of drought resistance by the abscisic acid receptor PYL5 through inhibition of clade A PP2Cs. *Plant J* **60**: 575–588
- Shang Y, Dai C, Lee MM, Kwak JM, Nam KH** (2016) BRI1-Associated Receptor Kinase 1 Regulates Guard Cell ABA Signaling Mediated by Open Stomata 1 in Arabidopsis. *Mol Plant.* doi: 10.1016/j.molp.2015.12.014
- Sussmilch FC, Schultz J, Hedrich R, Roelfsema MRG** (2019) Acquiring Control: The Evolution of Stomatal Signalling Pathways. *Trends Plant Sci* **24**: 342–351
- Szostkiewicz I, Richter K, Kepka M, Demmel S, Ma Y, Korte A, Assaad FF, Christmann A, Grill E** (2010) Closely related receptor complexes differ in their ABA selectivity and sensitivity. *Plant J* **61**: 25–35
- Szurman-Zubrzycka ME, Zbieszczak J, Marzec M, Jelonek J, Chmielewska B, Kurowska MM, Krok M, Daszkowska-Golec A, Guzy-Wrobelska J, Gruszka D, et al** (2018) HorTILLUS—A Rich and Renewable Source of Induced Mutations for Forward/Reverse Genetics and Pre-breeding Programs in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Front Plant Sci* **9**: 1–16
- Worch R, Niedzwiecka A, Stepinski J, Mazza C, Jankowska-anyszka M, Darzynkiewicz E, Cusack S, Stolarski R** (2005) Specificity of recognition of mRNA 5'0 cap by human nuclear cap-binding complex. 1355–1363
- Worman HJ, Michaelis S** (2018) Permanently farnesylated prelamin a, progeria, and atherosclerosis. *Circulation* **138**: 283–286
- Yin P, Fan H, Hao Q, Yuan X, Wu D, Pang Y, Yan C, Li W, Wang J, Yan N** (2009) Structural insights into the mechanism of abscisic acid signaling by PYL proteins. *Nat Struct Mol Biol* **16**: 1230–1236
- Zhao L, Kunst L** (2016) SUPERKILLER complex components are required for the RNA exosome-mediated control of cuticular wax biosynthesis in Arabidopsis inflorescence stems. *Plant Physiol* **171**: pp.00450.2016

5) INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ.

Poza badaniami związanymi z przedstawionym powyżej osiągnięciem naukowym moje pozostałe zainteresowania naukowe obejmowały relatywnie szeroki obszar tematyczny koncentrując się na zagadnieniach związanych z genetyczną regulacją procesów rozwojowych roślin.

Dane bibliograficzne (wraz z informacjami naukometrycznymi) dotyczące omawianych poniżej aktywności przedstawione zostały w wykazie w Załączniku nr 4 do Wniosku 'Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny'. Natomiast kopie publikacji zostały przedstawione w Załączniku do Autoreferatu nr 4 (Publikacje-pozostały-dorobek-naukowy).

Tematyka prowadzonych przeze mnie badań obejmowała trzy główne obszary badawcze:

1. Analiza genetyczna procesu kiełkowania nasion *Arabidopsis* w warunkach stresu abiotycznego i w obecności kwasu abscysynowego
2. Genomika funkcjonalna procesów rozwojowych i związanych z odpowiedzią na stres abiotyczny u jęczmienia
3. Metody badania odpowiedzi roślin na stresy abiotyczne ze szczególnym uwzględnieniem fotosyntezy

1. Analiza genetyczna procesu kiełkowania nasion *Arabidopsis* w warunkach stresu abiotycznego i w obecności kwasu abscysynowego

Od początku pracy badawczej moje zainteresowania naukowe skupiają w obszarze regulacji ekspresji genów zależnej od kwasu abscysynowego (ABA). Po ukończeniu studiów magisterskich w 2006 roku zostałam zatrudniona w Katedrze Genetyki UŚ na etacie asystenta. Pod kierunkiem Pani Prof. dr hab. Iwony Szarejko rozpoczęłam badania w ramach projektu **'Molekularne podstawy odpowiedzi roślin uprawnych i modelowych na stres'**, w którym nasz zespół odpowiedzialny był za analizy w ramach zadania koordynowanego przez prof. dr hab. Artura Jarmołowskiego z Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu: **'Badanie odpowiedzi rośliny na stres w regulacji ekspresji genów: identyfikacja genów i ich produktów uczestniczących w zwiększeniu tolerancji roślin na stres niedoboru wody'**. Zaangażowanie w projekt naukowy we współpracy z zespołem spoza Uniwersytetu Śląskiego już na początku pracy badawczej miało znaczny wpływ na mój dalszy rozwój naukowy. Uświadomienie potrzeby współpracy naukowej, a także doświadczenie interdyscyplinarności podejmowanych tematów badawczych, możliwość dyskusji z innymi badaczami oraz nawiązywanie nowej współpracy, ukształtowało mnie jako młodego badacza. Badania te stanowiły podstawę do realizacji mojej pracy doktorskiej, której Pani Profesor Iwona Szarejko była promotorem.

W ramach projektu 'Molekularne podstawy odpowiedzi roślin uprawnych i modelowych na stres' zajmowałam się identyfikacją homozygotycznych linii supresorowych o fenotypie znoszącym

nadwrażliwość na ABA mutantu *abh1* (*ABA-hypersensitive 1*) w czasie kiełkowania nasion. Mutacja *abh1* została zidentyfikowana w genie *CBP80* (*Cap-Binding Protein 80*) (Hugouvieux et al., 2001). *CBP80* koduje większą podjednostkę kompleksu wiążącego strukturę czapeczki (CBC – Cap-Binding Complex) mRNA na końcu 5'. W celu zrozumienia mechanizmu działania kompleksu (CBC) w procesie kiełkowania nasion *Arabidopsis* podjęto próbę identyfikacji mutacji supresorowych *abh1*, które powodowałyby zniesienie fenotypu nadwrażliwości na ABA. Podjęcie badań w kontekście procesu kiełkowania nasion w obecności stresu abiotycznego bądź kwasu abscysynowego jest szczególnie istotne. Tolerancja niesprzyjających warunków środowiska jest kluczowym mechanizmem na drodze do przetrwania kolejnych pokoleń.

W 2011 roku na zaproszenie edytora czasopisma *OMICS: Journal of Integrative Biology* przygotowałam pracę przeglądową na temat mechanizmu regulacji procesu kiełkowania [P2: Daszkowska-Golec, 2011, *OMICS: Integrative Journal of Plant Biology*] (Daszkowska-Golec, 2011). Praca ta koncentrowała się na regulacji ekspresji wybranych genów zależnych od ABA i giberelin (GA) działających antagonistycznie w procesie kiełkowania nasion. Wskazałam istotne fazy fizjologiczne w czasie kiełkowania nasion w warunkach stresu abiotycznego. Publikacja zawiera autorskie schematy ilustrujące sieci zależności między genami o istotnym znaczeniu w kontekście regulacji procesu kiełkowania nasion oraz tabelę zestawiającą geny o udokumentowanej funkcji w procesie kiełkowania roślin. Przygotowanie tej obszernej pracy przeglądowej umożliwiło usystematyzowanie wiedzy z zakresu regulacji procesu kiełkowania nasion w ekspozycji na stres, w kontekście interakcji hormonalnych.

Metody badawcze koncentrujące się na rozwikłaniu mechanizmu regulacji procesu kiełkowania w odpowiedzi na stres abiotyczny na poziomie molekularnym u transgenicznych roślin *Arabidopsis* stanowiły główny temat mojego **3-miesięcznego stażu w 2009 roku w INRA/CNRS – URGV (Unité de Recherche en Génomique Végétale) w Evry (Francja) w grupie prof. Heriberta Hirta**. Badania grupy koncentrowały się na fosfoproteomice ze szczególnym uwzględnieniem szlaku kinaz z rodziny MAPK. Staż sfinansowany był ze środków projektu UPGOW – Uniwersytet Partnerem Gospodarki Opartej na Wiedzy. Pobyt w INRA pozwolił mi zapoznać się z technikami biologii molekularnej poczynając od projektowania poprzez przygotowanie konstruktyw umożliwiających wyprowadzenie transgenicznych roślin *Arabidopsis thaliana*. Drugim obszarem badań w jakich uczestniczyłam w INRA było szczegółowe fenotypowanie linii transgenicznych w warunkach stresowych. W trakcie stażu pracowałam również nad zbadaniem lokalizacji jądrowej lub cytoplazmatycznej wybranych białek z kaskady MAPK z wykorzystaniem linii transgenicznych z sygnałem lokalizacji jądrowej i cytoplazmatycznej. Doświadczenie zdobyte w czasie stażu umożliwiło mi szczegółowe zaplanowanie dalszych doświadczeń w ramach pracy doktorskiej, ale także implementację wiedzy praktycznej do procesu dydaktycznego w ramach przedmiotów, które prowadziłam ze studentami, jak np. Inżynieria genetyczna.

Wiedza i kompetencje nabyte w czasie realizacji projektu 'Molekularne podstawy odpowiedzi roślin uprawnych i modelowych na stres' oraz w czasie badań prowadzonych w ramach stażu w INRA/URGV umożliwiły mi aplikowanie o grant promotorski '**Identyfikacja genów odpowiedzialnych za supresję nadwrażliwości na kwas abscysynowy u mutantu *abh1 Arabidopsis thaliana*' (NN301508938)**. Uzyskane finansowanie pozwoliło mi zrealizować kolejne analizy zmierzające do identyfikacji genu, którego mutacja powodowała supresję nadwrażliwego na ABA fenotypu mutantu *abh1*. Zniesiona nadwrażliwość na ABA w trakcie kiełkowania nasion stanowiła kryterium, które zastosowane zostało w celu izolacji mutantów supresorowych *abh1*. Wyniki szczegółowych analiz fizjologicznych mutantu supresorowego *soa1* (*suppressor of abh1 hypersensitivity to ABA1*) umożliwiły mi wytypowanie genów kandydackich, których mutacje mogłyby skutkować fenotypem obserwowanym u badanej formy. U mutantu supresorowego *soa1* zidentyfikowano mutację typu STOP w genie *ABI4* (*ABA insensitive 4*), kodującym czynnik transkrypcyjny zawierający domenę APETALA 2 (AP2). Związek mutacji w genie *ABI4* z fenotypem supresora *soa1* potwierdzono przez analizę kosegregacji mutacji *soa1* z fenotypem niewrażliwości na ABA w czasie kiełkowania nasion w toku analizy genetycznej. Dalsze analizy poziomu ekspresji wybranych genów regulujących kiełkowanie nasion w obecności ABA umożliwiły zaproponowanie pierwszego modelu interakcji molekularnej pomiędzy *ABI4* i *ABH1* (CBP80) u *Arabidopsis* w czasie kiełkowania nasion. Wyniki te stały się podstawą do przygotowania **rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Identyfikacja genów odpowiedzialnych za supresję nadwrażliwości na kwas abscysynowy u mutantu *abh1 Arabidopsis thaliana*”, której promotorem była prof. dr hab. Iwona Szarejko**. Rozprawa została wyróżniona decyzją Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska i nagrodzona Nagrodą JM Rektora Uniwersytetu Śląskiego za najlepszą pracę dokorską obronioną w latach 2011-2012. Szczegółowe wyniki badań uzyskanych w czasie prac związanych z realizacją projektu doktorskiego, a także późniejsze uzupełniające je o dodatkowe analizy przedstawiono w dwóch pracach oryginalnych **[P3: Daszkowska-Golec et al., 2013, Plant Molecular Biology; P4: Daszkowska-Golec et al., 2013, International Journal of Molecular Sciences]**.

Zainteresowanie procesem kiełkowania nasion jako istotną fazą rozwojową roślin w kontekście interakcji hormonalnych i w odpowiedzi na stresy abiotyczne spowodowało, że kilka lat później przygotowałam na zaproszenie edytora wydawnictwa książkowego rozdział **[R3: Skubacz i Daszkowska-Golec, 2017]**. W rozdziale tym szczegółowo zajmujemy się najbardziej aktualnymi raportami naukowymi dotyczącymi regulacji procesu uśpienia nasion, który jest kluczowym w przetrwaniu niesprzyjających warunków środowiskowych. Moją rolą w przygotowaniu tego rozdziału było opracowanie koncepcji i planu manuskryptu oraz napisanie fragmentów dotyczących interakcji między hormonami i finalna edycja całości. W rozdziale tym szczególnie cenne jest zogniskowanie na aktualnej wiedzy dotyczącej mechanizmów molekularnych na

poziomie regulacji ekspresji genów zależnych od różnych fitohormonów w kontekście uśpienia nasion oraz przerwania tego procesu.

Genomika funkcjonalna procesów rozwojowych i związanych z odpowiedzią na stres abiotyczny u jęczmienia

Jeszcze w czasie realizacji pracy doktorskiej skoncentrowanej na badaniach dotyczących *Arabidopsis* zainspirowana przez prof. dr hab. Iwonę Szarejko i prof. dr hab. Mirosława Małuszyńskiego zaczęłam prowadzić badania z wykorzystaniem jęczmienia jarego jako obiektu badań i modelu dla roślin jednoliściennych. W roku 2008 uczestniczyłam w dwutygodniowym szkoleniu w ramach 'Regional Training Course on Screening for Drought Tolerance for Eastern European Countries' w najbardziej znanym na świecie ośrodku naukowym prowadzącym badania nad stresem suszy u roślin uprawnych, a jednocześnie najcenniejszym bankiem różnorodności genetycznej roślin – **ICARDA (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas)** w Aleppo, w Syrii. Warsztaty i wykłady, w których uczestniczyłam w ramach kursu umożliwiły mi dostrzec inną perspektywę w prowadzonych dotychczas badaniach i wzmocniły przekonanie o konieczności rozszerzenia ich o gatunki uprawne. W Katedrze Genetyki UŚ w tym samym czasie byłam zaangażowana w projekt finansowany przez MNiSW (**PBZ-MNiSW-2/3/2006/8**) **'Stworzenie platformy TILLING *Hordeum vulgare* jako trwałego narzędzia genomiki funkcjonalnej i doskonalenia cech użytkowych'**, który realizowany był w naszym zespole pod kierunkiem Pani Prof. Iwony Szarejko. W ramach tego projektu wyprowadzono populację *HorTILLUS* (*Hordeum vulgare*-TILLING-University of Silesia), uzyskaną po traktowaniu mutagenicznym ziaren jęczmienia odmiany 'Sebastian' azydkiem sodu oraz N-metylo-N-nitrozomocznikiem. Populacja ta stanowi unikalne na skalę światową narzędzie w badaniach z zakresu genomiki funkcjonalnej jęczmienia jarego [**P7: Szurman-Zubrzycka et al. 2018 *Frontiers in Plant Science***]. W ramach tego projektu brałam udział w pracach związanych z wygenerowaniem populacji *HorTILLUS*, a w latach późniejszych uczestniczyłam w utrzymaniu populacji. Strategia TILLING jest metodą odwrotnej genetyki, która w erze sekwencjonowania genomów, a więc dostępu do ogromnych ilości danych w postaci sekwencji DNA, jest jedyną metodą nieangażującą inżynierii genetycznej, która umożliwia wyprowadzenie mutantów w dowolnym genie i jego późniejszą analizę funkcjonalną. Co więcej, w strategii TILLING konieczne jest połączenie metod klasycznej mutagenyzy z technikami molekularnymi, a także analizami bioinformatycznymi w celu identyfikacji mutacji w wybranym genie. Szczegółowe dane odnośnie metodyki związanej ze strategią TILLING zebraliśmy w pracy przeglądowej, której jestem współautorem [**P1: Kurowska et al., 2011, *Journal of Applied Genetics***]. Moja rola głównie polegała na zebraniu i opisaniu informacji na temat analiz bioinformatycznych genów kandydackich oraz analiz mających na celu predykcję wpływu zidentyfikowanej mutacji na funkcjonalność białka lub zmiany w procesie splicingu.

W 2008 roku uczestniczyłam w przygotowywaniu wniosku o projekt **POLAPGEN-BD „Narzędzia biotechnologiczne służące do otrzymywania zbóż o zwiększonej odporności na suszę”** (finansowanego w ramach Działania 1.3, poddziałania 1.3.1 Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007-2013), w którym nasza grupa była jednym z dwunastu Partnerów konsorcjum (<http://www.polapgen.pl/>). Projekt realizowaliśmy w latach 2008-2014 w ramach trzech spośród 23 zadań badawczych. Pełniłam funkcję głównego wykonawcy w zadaniu badawczym nr 22 'Wykorzystanie strategii TILLING w analizie genów kandydatów związanych z odpowiedzią jęczmienia na stres niedoboru wody', którego kierownikiem była prof. dr hab. Iwona Szarejko. W ramach pracy w tym interdyscyplinarnym projekcie miałam możliwość współpracy nie tylko z naukowcami z wiodących ośrodków w Polsce, ale również nawiązania współpracy z sektorem przedsiębiorstw hodowlanych w Polsce. Moim zadaniem jako głównego wykonawcy w zadaniu 22 projektu była analiza *in silico* wybranych genów, poszukiwanie nowych alleli z wykorzystaniem metody TILLING, a także późniejsze zaangażowanie w opracowanie protokołów traktowania stresami abiotycznymi i charakterystyka mutantów. Uczestniczyłam w badaniach w wyniku, których zidentyfikowaliśmy łącznie ponad 151 mutantów jęczmienia jarego w 10 genach związanych z odpowiedzią na stres suszy wytypowanych w wyniku analiz *in silico*. Łącznie 21 mutantów poddaliśmy fenotypowaniu i wstępnej fizjologicznej i molekularnej charakterystyce. Aż 14 linii wykazywało odpowiedź na stres deficytu wody lepszą niż ich odmiana wyjściowa. Dwa spośród opisywanych tutaj mutantów stanowiły obiekt badań będących podstawą osiągnięcia naukowego opisywanego w punkcie 4. niniejszego dokumentu. Ponadto, opracowane w wyniku prowadzonych prac testy wrażliwości na wybrane stresse abiotyczne jęczmienia we wczesnym stadium rozwoju, tj. w czasie kiełkowania nasion i wczesnego rozwoju siewki zostały opisane szczegółowo w rozdziale przygotowywanym na zaproszenie edytora monografii Prof. Wendy Harwood wydanej przez wydawnictwo Springer [R4: Daszkowska-Golec et al. 2019].

W wyniku wstępnych badań fenotypowych zidentyfikowano m.in. mutant o lepszej tolerancji na stres deficytu wody - *hvabi5.d*. Mutant charakteryzuje się zmianą w istotnym genie regulatorowym odpowiedzi na ABA u Arabidopsis – *ABI5* (*ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5*). Analiza z zakresu genomiki funkcjonalnej jęczmiennego *ABI5* stanowi przedmiot badań w **pracy doktorskiej mgr Anny Collin (Skubacz) „Analiza roli genu HvABI5 w odpowiedzi na stres abiotyczny u jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.)”**. Przewód doktorski został otwarty w roku akademickim **2016/2017, promotorem pracy jest Pani Profesor Iwona Szarejko, ja natomiast pełnię rolę promotora pomocniczego**. Praca doktorska ma na celu wyjaśnienie roli czynnika transkrypcyjnego *ABI5* (*ABA INSENSITIVE 5*) w odpowiedzi na stres abiotyczny u jęczmienia. W tym celu wykorzystano alleliczne mutanty zidentyfikowane w genie *HvABI5* w ramach projektu POLAPGEN-BD. W toku badań stosowane są metody biologii molekularnej, w tym analiza ekspresji genów z zastosowaniem globalnej analizy transkryptomu oraz analiz RT-qPCR, a także

analizy fizjologiczne. Doktorantka w roku 2017. została laureatką w konkursie NCN na projekt naukowy PRELUDIUM 13 'Rola czynnika transkrypcyjnego HvABI5 w odpowiedzi na stres suszy u jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.)' w ramach, którego mgr Collin m.in. poszukuje genów, których ekspresja jest regulowana przez ABI5 w warunkach stresu suszy. Na początkowym etapie prac doktorantka zebrała dostępne dane na temat regulacji ABI5 u różnych gatunków roślin i w sposób wyczerpujący przedstawiła je w bardzo dobrze cytowanej pracy przeglądowej [P5: Skubacz et al. 2016, *Frontiers in Plant Science*]. Moja rola w tej pracy dotyczyła głównie współuczestniczenia w opracowaniu koncepcji pracy, redagowania ostatecznej wersji manuskryptu i pomocy w przygotowaniu odpowiedzi na pytania recenzentów. W wyniku analiz genomicznych z wykorzystaniem profilowania ekspresji genów oraz szczegółowych analiz fizjologicznych prowadzonych nad mutantem *hvabi5.d* wykazano, że *HvABI5* pełni rolę regulacyjną w ABA-zależnej odpowiedzi na stres suszy, łącząc tym samym drogi ewolucji czynnika ABI5 zidentyfikowanego u *Arabidopsis* oraz czynników transkrypcyjnych z rodziny ABF. Co ciekawe udowodniliśmy również, że regulacja procesu kiełkowania poprzez *HvABI5* stanowi odrębną ścieżkę sygnałową niezależną od odpowiedzi na stres suszy. Wyniki badań obejmujących szczegółowe analizy fizjologiczne i profilowanie ekspresji genów w jasny sposób prezentują po raz pierwszy u jednoliściennych szeroką analizę kluczowego czynnika transkrypcyjnego w szlaku sygnałowym ABA [P12: Collin et al. 2020, *Frontiers in Plant Science*]. Mój udział w tej pracy polegał przede wszystkim na uczestniczeniu w opracowaniu koncepcji badań, opiece merytorycznej nad doktorantką w czasie prowadzenia badań i wstępnej analizie danych pochodzących z globalnego profilowania ekspresji genów w wyniku, której uzyskałam listy genów o zróżnicowanej ekspresji. Dogłębną i szczegółową analizę ich znaczenia biologicznego i zależności między nimi w celu wytworzenia specyficznej odpowiedzi na stres u mutantu *hvabi5.d* przeprowadziła doktorantka z moją pomocą.

W swojej pracy badawczej z zakresu genomiki funkcjonalnej jęczmienia jarego byłam również zaangażowana w realizację międzynarodowego projektu finansowanego w ramach 7 Ramowego Projektu Unii Europejskiej 'EURoot: Enhancing resource Uptake from Roots under stress in cereal crops' (EU Framework 7, FP7-KBBE-2011-5). Jednym z zadań badawczych, które realizowaliśmy w Katedrze Genetyki UŚ było określenie roli włośników w reakcji na stres suszy. W Katedrze Genetyki UŚ dysponujemy kolekcją mutantów jęczmienia jarego uzyskanych po mutagenезie chemicznej, m.in. półkarłowych i karłowych, ale również posiadających zmiany morfologiczne włośników. Z literatury wiadomo, że włośniki pełnią istotną rolę w pozyskiwaniu przez roślinę soli mineralnych, wody, a także mikro- i makroelementów z gleby (Marzec et al., 2015). Wciąż jednak nieznana była rola włośników w odpowiedzi na stres suszy. Badania z wykorzystaniem mutantu bezwłośnikowego *rhl1* (*root hairless 1*) i jego odmianą wyjściową 'Karat' umożliwiły wywnioskowanie, że włośniki pełnić mogą rolę „sensorów” ostrzegających roślinę ze znacznym wyprzedzeniem przed deficytem wody. Okazało się bowiem, że mutant bezwłośnikowy

charakteryzował się znacznie obniżoną zawartością wody w liściu oraz wydajnością fotosyntezy. Nasze badania wskazały, że u odmiany wyjściowej już na początku trwania stresu suszy aktywacji ulegają geny, które powiązać można było z procesami odpowiedzi na deficyt wody, których produkty zapewniają ochronę przed destrukcyjnym wpływem stres. Z kolei dłuższy czas ekspozycji na deficyt wody wyzwał u mutantu znacznie więcej zmian na poziomie transkryptomu, co korelowało ze znacznym obniżeniem wydajności procesu fotosyntezy, niż było to obserwowane u odmiany wyjściowej [P6: Kwaśniewski et al., 2016, *Journal of Experimental Botany*]. W tych badaniach szczególnie cenne było moje doświadczenie w prowadzeniu eksperymentów związanych z odpowiedzią jęczmienia na stres suszy i znajomością metod dotyczących analiz parametrów fizjologicznych istotnych dla funkcjonowania rośliny w warunkach stresu. Ponadto, z uwagi na wiedzę związaną ze zmianami na poziomie molekularnym w szlaku sygnałowym odpowiedzi na stres suszy brałam także udział w interpretacji wyników.

Wyniki uzyskane w ramach badań związanych z głównym nurtem mojej pracy naukowej – analizą podstaw molekularnych ABA-zależnej odpowiedzi na stres suszy jęczmienia jarego – opisanych w części poświęconej osiągnięciu naukowemu stanowiły istotny wkład w trakcie aplikowania o finansowanie kolejnego projektu badawczego w konsorcjum międzynarodowym. **Od listopada 2019 kieruję badaniami polskiego zespołu realizującego razem z 12 partnerami z 8 krajów Europy projekt BARISTA ‘Zaawansowane narzędzia służące zintensyfikowanej i zrównoważonej uprawie jęczmienia w obliczu zmian klimatycznych’** (projekt międzynarodowy finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach pierwszego konkursu programu ERA-NET COFUND SusCrop finansowanego w ramach programu ramowego HORYZONT 2020 na rzecz badań i innowacji (No 771134) <https://www.suscrop.eu/projects-first-call/barista>). Projekt BARISTA koncentruje się na wielokierunkowej analizie genetycznej, fizjologicznej i agronomicznej wybranych cech jęczmienia jarego, które umożliwią jego zrównoważoną uprawę w obliczu zmian klimatycznych. W ramach projektu BARISTA działania dwunastu Partnerów z ośmiu krajów Europy m.in. Włoch, Finlandii, Niemiec, Hiszpanii, Estonii i Danii, ukierunkowane będą na opracowanie i dostarczenie nowych narzędzi hodowlanych w uprawie jęczmienia, umożliwiających uzyskanie nowych, wysokoplonujących odmian tolerancyjnych na stesy abiotyczne oraz odpornych na patogeny. Zadaniem zespołu, którego pracami kieruję, jest m.in. sprawdzenie efektu mutacji w genach *HvCBP20*, *HvERA1* i *HvABI5* w odpowiedzi na stres suszy w stadium dojrzałej rośliny z uwzględnieniem plonowania (te badania prowadzimy w ścisłej współpracy z Partnerami z Niemiec i Finlandii); wprowadzenie alleli wspomnianych genów, które powodują tolerancję na stres suszy w stadium siewki, do tła genetycznego elitarnych odmian jęczmienia jarego poprzez krzyżowania, a następnie walidacja fenotypu. To drugie zadanie jest szczególnie istotne ze względu na potencjał aplikacyjny w razie pomyślnego wyniku walidacji fenotypu w innym niż ‘Sebastian’ tle genetycznym. Prace te prowadzimy w ścisłej współpracy z największą w Polsce stacją hodowli DANKO. Stacja hodowli

DANKO jest również zaangażowana w prace mające na celu ocenę cech agronomicznych 60 wybranych w toku projektu genotypów jęczmienia jarego w warunkach polowych w dwóch następujących po sobie sezonach. Analogiczne analizy z wykorzystaniem tego samego materiału są prowadzone w Hiszpanii, Włoszech, Danii i Estonii, co zapewni odpowiedź na pytanie jak badane genotypy reagują na zmiany klimatyczne w różnych warunkach geograficznych.

Ze względu na doświadczenie w badaniach związanych z genetyką jęczmienia zostałam zaproszona do współpracy przez zespół **prof. dr hab. Pawła Krajewskiego z Instytutu Genetyki Roślin PAN w Poznaniu** oraz **dr hab. Anetty Kuczyńskiej w tym samym Instytucie** w ramach projektów finansowanych przez NCN. W pierwszym z nich, projekcie **HARMONIA 8: 'Regulacja ekspresji genu półkarłowatości *sdw1/denso* u jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.) i jej związek z architekturą i fizjologią roślin'**, którego kierownikiem jest Pan Profesor Krajewski realizowałam zadanie badawcze, mające na celu identyfikację polimorfizmu w genie kodującym oksydazę giberelinową *HvGA20ox*, a także w obrębie jego sekwencji promotorowej u linii bliskoizogenicznych niosących mutacje *sdw1.a* i *sdw1.d* oraz ich odmiany wyjściowej 'Bowman'. Zadanie to stanowiło punkt wyjścia do dalszej analizy bioinformatycznej regionu promotorowego badanego *locus* u każdego z genotypów w celu identyfikacji motywów rozpoznawanych przez czynniki transkrypcyjne (TFBS – Transcription Factor Binding Sites), a następnie powiązanie ich z potencjalnie wiążącymi je czynnikami transkrypcyjnymi. Wyniki tych analiz posłużyć miały dalszym etapom prac badawczych, mających na celu ustalenie czynników regulujących ekspresję genu *HvGA20ox*. Ponadto, mutanty w genie kodującym oksydazę giberelinową oraz ich odmiana wyjściowa 'Bowman' poddane zostały stresowi wysokiej temperatury celem identyfikacji zależności regulacyjnych związanych z mutacją w *HvGA20ox*. W tym zadaniu badawczym byłam odpowiedzialna za przeprowadzenie szczegółowej analizy wydajności fotosystemu oraz zawartości pigmentów fotosyntetycznych u badanych genotypów w warunkach kontrolnego wzrostu i w ekspozycji na stres ciepła. Obecnie trwają prace nad integracją danych i interpretacją uzyskanych wyników.

Kolejnym projektem, w realizację którego jestem zaangażowana jest projekt **OPUS 12: 'Wyjaśnianie współdziałania hormonów i jego roli w kształtowaniu architektury roślin jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.)'** kierowany przez dr hab. Anettę Kuczyńską. Założeniem badań jest, że zaburzenia w syntezie giberelin w mutantach z genem półkarłowatości wpływają na metabolizm innych hormonów. A pytanie badawcze dotyczy tego jak zaburzenia te mogą być kompensowane przez inne hormony na zasadzie sprzężenia szlaków regulacyjnych. Moim zadaniem w tym projekcie było zoptymalizowanie testów wrażliwości na gibereliny i brasinosteroidy w czasie wczesnego rozwoju siewki jęczmienia. Badania obejmują mutanty syntezy giberelin (*sdw1.a*, *sdw1.d*), signalingu brasinosteroidów (*bri1*) oraz signalingu strigolaktonów (*hvd14.d*). Tak przygotowany zestaw linii jęczmienia umożliwi wnioskowanie

o działaniu egzogennych hormonów na mutanty w genach syntezy, ale również sygnalizacji każdej z grup hormonów osobno. Co więcej, dalsze badania poziomu ekspresji wybranych genów ze szlaku metabolizmu i sygnalizacji hormonów u każdej z badanych linii mają na celu zdefiniowanie podstaw molekularnych interakcji hormonalnych w czasie rozwoju siewki jęczmienia.

Metody badania odpowiedzi roślin na stresy abiotyczne ze szczególnym uwzględnieniem fotosyntezy

Fundamentalnym procesem, który realizowany jest przez organizmy roślinne jest fotosynteza. Proces ten jest kluczowy dla przetrwania wszystkich organizmów żywych, stąd badania zmierzające do pełnego zrozumienia tej ścieżki metabolicznej są bardzo istotne. Kiedy dodamy do tych faktów rosnące zagrożenie strat upraw związane ze zmianami klimatycznymi konieczne okazuje się w dalszej perspektywie poszukiwanie/selekcja w kierunku uzyskania takich odmian, które będą przeprowadzać proces fotosyntezy wydajnie w warunkach niekorzystnych, takich jak stres zasolenia, deficytu wody czy w warunkach niedoboru składników odżywczych. Wydajna fotosynteza przekłada się na lepszy plon i wyższą biomasę. Stąd badania związane z procesem fotosyntezy u różnych gatunków roślin były szczególnie interesujące dla mnie, a nawiązana współpraca z fizjologami roślin, umożliwiła mi uczestniczenie w badaniach skoncentrowanych na procesie fotosyntezy w różnych aspektach rozwojowych roślin, również w ekspozycji na niesprzyjające warunki środowiska.

Ze względu na moje doświadczenie w badaniach prowadzonych na jęczmieniu, badania związane z tym gatunkiem stanowiły punkt wyjścia we współpracy. Wraz z zespołem prof. dr hab. Hazema Kalajiego zastosowaliśmy układ doświadczalny, w którym przeprowadzono ocenę wrażliwości na 14 różnych stresów abiotycznych dla dwóch syryjskich odmian jęczmienia różniących się odpowiedzią na stres. Udowodniliśmy różny stopień wrażliwości fotosystemów jęczmienia w zależności od stresu abiotycznego w oparciu o test OJIP, charakteryzujący krzywą fluorescencji. Sformułowaliśmy tym samym tezę o przydatności wybranych parametrów testu OJIP do oceny wrażliwości na stres jęczmienia jarego [P8: Kalaji et al., 2018, *Photosynthetica*].

W kolejnej pracy we współpracy z dr. Krzysztofem Sitko skupiliśmy się na reakcji siewek kukurydzy na krótkoterminowy deficyt makroelementów w kontekście zmian jakie zachodzą w funkcjonowaniu fotosystemów, procesie transpiracji i syntezie pigmentów fotosyntetycznych. Uzyskane wyniki umożliwiły stwierdzenie, że najbardziej negatywny wpływ na funkcjonowanie fotosyntezy ma niedobór magnezu. Najciekawszym wynikiem, który odnotowaliśmy był brak jakichkolwiek zmian dotyczących inhibicji wzrostu w siewkach rozwijających się w ekspozycji na niedobór makroskładników, a jedyne zmiany fenotypowe dotyczyły obniżenia parametrów fizjologicznych, określających wydajność fotosyntezy. To z kolei pozwoliło nam na wytypowanie

markerów odpowiedzi na niedobór makroskładników spośród tychże parametrów u kukurydzy. Moja rola w tej pracy dotyczyła uczestniczenia w analizach danych pochodzących z pomiarów parametrów fizjologicznych oraz edycji ostatecznej wersji manuskryptu [P9: Sitko et al., 2019, **Scientific Reports**].

Następna praca, której tematyka związana jest z funkcjonowaniem aparatu fotosyntetycznego, dotyczy procesów rozwojowych winorośli i tego jak w czasie rozwoju i starzenia rośliny zmienia się aparat fotosyntetyczny pod względem wydajności. Badania te realizowane we współpracy z dr. Sitko przyniosły istotne wnioski dotyczące zmian zachodzących w fotosystemie winorośli w czasie 130-dniowego rozwoju. Po raz pierwszy w badaniach *in situ* wskazaliśmy krótki interwał czasowy w rozwoju winorośli, kiedy fotosynteza zachodzi najbardziej wydajnie i skorelowane z tymi wskaźnikami są zawartość antocyjanów, chlorofilu oraz flawonoli [P10: Sitko et al., 2020, **Photosynthetica**].

Interesującym wyzwaniem była również współpraca w ramach projektu SONATA 10 '**Gen HvSNAC1 (Stress responsive NAC1) u jęczmienia - nowa funkcja w regulacji akwaporyn podczas stresu abiotycznego**', którego kierownikiem była dr Kurowska. Moje zadanie dotyczyło analizy funkcjonowania fotosystemu siewek jęczmienia traktowanych egzogennym jasmonianem metylu (MeJA). W wyniku analiz wykazano, że wydajność fotosyntetyczna drastycznie spada po traktowaniu MeJA, co pozwoliło na wysunięcie wniosku o negatywnym wpływie jasmonianów na proces fotosyntezy u jęczmienia jarego. Ponadto, analizy ekspresji genów kodujących istotne elementy strukturalne fotosystemu II wykazały istotne obniżenie poziomu transkryptu. W wyniku wcześniej prowadzonych prac w regionach promotorowych genów kodujących akwaporyny z rodziny TIP (Tonoplast intrinsic proteins) zidentyfikowano motywy wiązane przez czynniki transkrypcyjne indukowane jasmonianem. Stąd, w omawianej pracy podjęto próbę oceny poziomu ekspresji w odpowiedzi na MeJA wybranych jęczmiennych homologów dla genów z rodziny TIP. Moja rola w tej pracy dotyczyła współudziału w opracowaniu hipotezy badawczej, przeprowadzeniu szczegółowej analizy procesu fotosyntezy i zawartości barwników fotosyntetycznych, opracowania statystycznego danych i współudziału w opracowaniu tekstu manuskryptu [P11: Kurowska et al., 2020, **International Journal of Molecular Sciences**].

Bieżące badania i plany na przyszłość

W 2017 roku uczestniczyłam w **Second International Barley Mutants Workshop** w University of Dundee w Szkocji, gdzie wygłaszałam referat dotyczący części badań stanowiących główne osiągnięcie naukowe prezentowane w części pierwszej Autoreferatu. Z uwagi na fakt, że duża część prowadzonych przeze mnie analiz dotyczy integracji różnych obszarów badawczych w tym bioinformatyki i genomiki oraz fizjologii roślin, badania te zainteresowały m.in. Dr. Martina Maschera z The Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK, Niemcy).

Nawiązana wtedy współpraca naukowa znalazła odzwierciedlenie we wspólnym wniosku projektowym złożonym w pierwszej edycji konkursu BEETHOVEN LIFE1 ogłoszonym przez NCN i DFG w Niemczech. Mimo, że nasz projekt został wysoko oceniony przez ekspertów nie uzyskał finansowania. Jednakże obecnie prowadzimy wspólne badania związane ze zdarzeniami alternatywnego splicingu w kontekście działania *CBP20* w stresie suszy, które finansowane były w ramach projektu **SONATA 10 'Genomika translacyjna w identyfikacji mechanizmu działania signalosomu CBP20 w odpowiedzi Arabidopsis i jęczmienia na stres suszy'**, którego byłam kierownikiem. W lutym 2020 w czasie tygodniowej wizyty naukowej w IPK wygłosiłam wykład na zaproszenie Dr. Martina Maschera pt. '*Exploring barley drought response using TILLING mutants*'. Wykład spotkał się z dużym zainteresowaniem, a wizyta naukowa umożliwiła zaplanowanie kolejnych eksperymentów dotyczących mutantu *hvera1.b* (omawianego w niniejszym dokumencie w punkcie 4.). Planowana jest analiza ultrastruktury chloroplastów we współpracy z Dr. Michaeliem Melzerem, która ma na celu sprawdzenie czy postulowana przez nas ochrona fotosystemów w postaci stabilniejszych błon chloroplastowych faktycznie ma miejsce u mutantu w warunkach suszy. Aktualnie, prowadzone są analizy materiału przez zespół z Niemiec.

Ponadto, nawiązana w ramach projektu BARISTA współpraca z grupą Prof. Hannesa Kollista i Dr. Ebe Merilo z University of Tartu w Estonii, a także zainteresowanie obu stron sygnalizacją ABA zależną od *ERA1*, zaowocowały wspólnymi planami badawczymi, które realizować będzie w Zespole Genetyki i Genomiki Funkcjonalnej Roślin UŚ Dr. Pirko Jalakas w ramach stażu podoktorskiego NAWA w programie Ulama, o który aplikowaliśmy wspólnie w marcu 2020. Będę pełnił rolę opiekuna Dr. Jalakas w czasie stażu, który ma rozpocząć się w maju 2021 roku. Zaplanowane przez nas badania dotyczą szczegółowych analiz roli genu *ERA1* w stresie suszy i sygnalizacji ABA u jęczmienia jarego. Analizy te mając stanowić uzupełnienie w/w badań zaplanowanych do realizacji z Dr. Melzerem.

Dzięki opanowaniu analiz bioinformatycznych danych pochodzących z sekwencjonowania NGS współpracuję również z innymi zespołami w Instytucie Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska UŚ. Jednym z projektów, w którym biorę udział jako wykonawca jest **SONATA 'Analiza ekspresji wybranych genów bakteryjnych i odpowiedź rośliny podczas wspomaganej bakteriami endofitycznymi fitoremediacji gleb skażonych węglowodorami ropopochodnymi'** kierowana przez dr. Tomasza Płociniczaka. W projekcie tym jestem odpowiedzialna za zadanie badawcze mające na celu analizę globalnego profilu ekspresji genów (RNA-seq) *Lolium perenne* w ekspozycji na węglowodory aromatyczne.

Kolejnym projektem w obszarze mikrobiologii, w którym biorę udział jest **SONATA 'Badanie interakcji w układzie roślina-bakterie podczas wspomaganej fitoremediacji gleby koczowniczościowej węglowodorami i metalami ciężkimi'** kierowana przez dr Magdalenę Pacwę-

Płociniczak. Celem projektu jest szczegółowa analiza interakcji pomiędzy rośliną i bakteriami promującymi jej wzrost w czasie wspomaganej fitoremediacji terenów ko-zanieczyszczonych substancjami organicznymi i metalami ciężkimi. W doświadczeniach wykorzystywana jest kukurydza (*Zea mays*) rosnąca w glebie ko-zanieczyszczonej. W projekcie tym odpowiedzialna jestem za zadanie, w którym prowadzić będziemy analizę ekspresji genów (metodą RNA-seq) w układach inokulowanych żywymi i martwymi PGPB, a także w układzie kontrolnym, w którym rośliny traktowane będą wodą.

Duży nacisk w swoim rozwoju naukowym kładę na integrację danych pochodzących z analiz genomicznych, fizjologicznych i mikroskopowych. W swoim warsztacie naukowym wdrożyłam metodykę analiz bioinformatycznych danych pochodzących z globalnych analiz ekspresji początkowo opartych o mikromacierze ekspresyjne, a potem wysokoprzepustowe sekwencjonowanie następnej generacji RNA-seq. Najbardziej istotna jest dla mnie integracja wyników uzyskanych jako efekt analiz bioinformatycznych z danymi dotyczącymi zmian fenotypowych w celu wyjaśnienia zależności biologicznych. Uważam, że tylko nieustanna ciekawość zapewni rozwój naukowy wynikający z podejmowanych działań. Dlatego w 2020 roku wystąpiłam z wnioskiem w konkursie NCN SONATA-BIS na finansowanie badań we współpracy z zespołem Dr. Martina Maschera (IPK, Niemcy) i Dr. Ebe Merilo (University of Tartu, Estonia). Obiektem naszych badań będzie podwójny mutant jęczmienia jarego w genach *CBP20* i *CBP80*, co z pewnością umożliwi lepsze zrozumienie działania kompleksu CBC u jęczmienia. Projekt w swoim założeniu będzie miał wiele wymiarów analiz ogniskujących się na zdefiniowaniu roli kompleksu CBC w ścieżce sygnałowej ABA. Badania te dotyczyć będą kilku stadiów rozwojowych jęczmienia jarego w ekspozycji na ABA, ale także stres suszy. Najważniejszym *novum* w tym projekcie jest unikalny materiał badawczy, którym będzie podwójny mutant jęczmienia w obu genach kodujących podjednostki kompleksu, ale również technika sekwencjonowania transkryptomu trzeciej generacji Pacific Biosystems (PacBio), którą pragnę wykorzystać w celu oceny zdarzeń na poziomie regulacji transkrypcyjnej i wynikającej z alternatywnego składania egzonów. Obecnie projekt pomyślnie przeszedł I etap oceny merytorycznej, kwalifikując się do II etapu ewaluacji.

6) INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ I SZTUKĘ.

a) Osiągnięcia dydaktyczne

Poza pracą naukową aktywnie uczestniczę w organizacji i prowadzeniu zajęć dydaktycznych dla studentów na kierunku 'Biotechnologia' studiów licencjackich, magisterskich oraz na kierunku 'Biotechnology' studiów magisterskich. Do moich osiągnięć w tym obszarze zaliczam:

- **2020/2021** Opracowanie **autorskiego cyklu wykładów i zajęć praktycznych z**

przedmiotu Bioinformatics dla studentów I roku Uzupełniających Studiów Magisterskich na kierunku Biotechnologia (studia prowadzone w języku angielskim). Program został wdrożony do procesu dydaktycznego i realizowany jest od roku akademickiego 2020/2021

- **2019/2020** Opracowanie **autorskiego cyklu wykładów i zajęć praktycznych z przedmiotu Bioinformatyka** dla studentów I roku Uzupełniających Studiów Magisterskich na kierunku Biotechnologia. Program został wdrożony do procesu dydaktycznego i realizowany jest od roku akademickiego 2019/2020
- **2019 – obecnie** **Przygotowanie i prowadzenie zajęć i wykładów z zakresu genetyki w ramach działalności dydaktycznej w Uniwersytecie Śląskim Dzieci**
- **2019 – obecnie** **Pełnienie funkcji promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim** mgr. Łukasza Gajdy „Pozycja troficzna wazonkowca białego (*Enchytraeus albidus*) w kontekście badań molekularnych” otwartym w roku akademickim 2019/2020. Promotorem przewodu doktorskiego jest prof. dr hab. Piotr Świątek.
- **2018** **Opieka merytoryczna nad wolontariuszką** w okresie czerwiec-lipiec 2018. Praca w laboratorium nad projektem obejmującym poszukiwanie mutacji z wykorzystaniem strategii TILLING w genie związanym z sygnalizacją kwasu abscysynowego u jęczmienia. Wolontariuszką była absolwentka szkoły średniej, kandydatka na studia wyższe w roku akademickim 2018/2019.
- **2017 – obecnie** **Pełnienie funkcji Tutora na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego** <http://www.tutor.us.edu.pl/tutorzy/>. W roku akademickim 2017/2018 zrealizowany został projekt zatytułowany ‘DNA Origami’ prowadzony w ramach tutoringów ze studentką II roku Biotechnologii, którego efektem końcowym jest esej popularnonaukowy.
- **2016 – obecnie** **Pełnienie funkcji promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim** mgr. Anny Collin „Analiza roli genu *HvABI5* w odpowiedzi na stres abiotyczny u jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.)” otwartym w roku akademickim 2016/2017. Doktorantka w roku 2017. została laureatką w konkursie NCN na projekt naukowy PRELUDIUM. Promotorem pracy doktorskiej jest prof. dr hab. Iwona Szarejko.
- **2007 – 2020** Pełnienie **opieki nad 17 pracami magisterskimi, opieki i promowania 10 prac licencjackich** realizowanych w Katedrze Genetyki, UŚ
- **2012** Opracowanie **autorskiego programu nauczania** dla studentów I roku Uzupełniających Studiów Magisterskich, wykonujących prace magisterskie w Katedrze Genetyki, UŚ dla przedmiotu: „Pracownia specjalizacyjna”. Program obejmujący cykl ćwiczeń, mających na celu rozwiązanie realnego problemu naukowego w konwencji projektu badawczego został wdrożony

do procesu dydaktycznego i realizowany jest od roku akademickiego 2012/2013

b) Osiągnięcia organizatorskie:

Widzę szanse i możliwości na rozwój w działalności organizatorskiej. Mam wewnętrzną potrzebę działania stąd chętnie angażuję się w działalność organizatorską. Do osiągnięć w tym obszarze zaliczam:

- **2021** **Organizacja i prowadzenie Jubileuszowej X Ogólnopolskiej Nocy Biologów** na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w formule zdalnej (<https://www.youtube.com/playlist?list=PLlhOYvtSn-fvmlPOK1PY9uubt5FFOBI7m&fbclid=IwAR0DHYGPIBncrIn0HV-4Zrh86Xr4M0Y0ETuhNUOCWzHDqq7mHWRRIGVgwOE>)
- **2020-obecnie** **Pełnienie funkcji Prodziekana ds. Promocji Badań i Umiejdzynarodowienia** Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach
- **2019-2020** **Pełnienie funkcji Prodziekana ds. Promocji i Rozwoju** Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach
- **2019-obecnie** **Pełnienie funkcji Pełnomocnika Dziekana ds. umiejdzynarodowienia** na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach
- **2020-obecnie** **Członek Rady Naukowej Śląskiego Festiwalu Nauki Katowice**
Zaangażowanie w organizację 4. i 5. Śląskiego Festiwalu Nauki Katowice, rola: Koordynator merytoryczny Strefy Przyroda
- **2020** **Organizacja IX Ogólnopolskiej Nocy Biologów** na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego
- **2016-2020** **Członek Komisji ds. Promocji i Rozwoju** Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach
- **2012-2016** **Członek Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska** Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach (jako przedstawiciel Adiunktów)

c) Działalność popularyzująca naukę

Kierując się III misją Uniwersytetu jaką jest popularyzacja badań naukowych, staram się prezentować wyniki badań nie tylko w postaci publikacji naukowych i referatów na konferencjach naukowych, ale również w formie popularnonaukowej w ramach wykładów na festiwalach nauki, a także współpracy z mediami. Za najważniejsze osiągnięcia w obszarze popularyzacji nauki uważam:

2020:

- „**Nie taki mutant straszny jak go malują**” – promocja badań realizowanych w ramach projektu SONATA i BARISTA w „Rzecz o Innowacjach” <https://rzecz.pl/blog/2020/10/01/nie-taki-mutant-straszny-jak-go-maluja/>
- **Webinar „Jak funkcjonują rośliny w stresie? – wszystko jest w genach!”** (<https://www.facebook.com/watch/live/?v=320226925810096>) prowadzony na żywo 8 lipca 2020 roku na zaproszenie Śląskiego Festiwalu Nauki Katowice. W czasie rzeczywistym w webinarze uczestniczyło 97 słuchaczy. Do tej pory (tj. do 27 lipca) webinar ma 2 tysiące wyświetleń. W

ramach tego webinaru w sposób popularnonaukowy przedstawiłam główne wyniki badań i pytania badawcze podejmowane w ramach projektów SONATA 10 i BARISTA

- **Uzyskanie finansowania w konkursie „Społeczna Odpowiedzialność Nauki” na projekt ‘Akcja Popularyzacja’** składany we współpracy z Wydziałem nauk Ścisłych i Technicznych Uniwersytetu Śląskiego. W ramach tego projektu w latach 2021-2022 na Wydziale Nauk Przyrodniczych UŚ planowany jest cykl wydarzeń w konwencji wykładów TED ([TED-Ideas Worth Spreading](https://www.ted.com)) zatytułowany „Zawód Naukowiec”, mający na celu przybliżenie specyfiki tego zawodu, ale również zainspirowanie młodych ludzi do odkrywania świata. Ta część projektu stanowi mój autorski pomysł.
- **„W drużynie siła”** udzielenie wywiadu Gazecie Uniwersyteckiej UŚ na temat działań naukowców pracujących w zespole, a także promocja realizacji badań w ramach projektu BARISTA (<https://gazeta.us.edu.pl/node/426233>)
- **Promocja problemów badawczych podejmowanych w ramach projektu BARISTA** w Gazecie Uniwersyteckiej UŚ (<https://us.edu.pl/en/projekt-barista-czyli-jeczmienn-kontra-zmiany-klimatyczne/>)
- Współpraca z czasopismem popularnonaukowym NoLimits i **promocja badań związanych z identyfikacją mutantów o lepszej adaptacji do warunków stresu suszy u jęczmienia jarego** (https://issuu.com/universytetslaski/docs/no_limits_nr_1_pl_21.01.2020)

2019:

- Przygotowanie i wygłoszenie wykładu **„Rośliny w kosmosie – rzecz o wykorzystaniu genetyki i nowoczesnej technologii w zrozumieniu odpowiedzi roślin na ekstremalne warunki kosmiczne”** w ramach III Śląskiego Studenckiego Festiwalu Nauki Katowice, Międzynarodowe Centrum Kongresowe w Katowicach

2018:

- Przygotowanie i wygłoszenie wykładu **„Historia o tym jak zmiana jednej litery w kodzie DNA podniosła tolerancję na stres suszy u jęczmienia jarego”** w ramach XIV Śląskiego Studenckiego Festiwalu Nauki i Dnia DNA organizowanego na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach
- Przygotowanie i wygłoszenie wykładu **„Jęczmień na krawędzi”** w ramach Śląskiego Festiwalu Nauki Katowice, Międzynarodowe Centrum Kongresowe w Katowicach
- Wygłoszenie wykładu **„Rośliny spragnione wody”** w ramach VII edycji Ogólnopolskiej Nocy Biologów na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach

2017:

- **Udzielenie wywiadu nt. DNA** dla telewizji Uniwersytetu Śląskiego w ramach serii „Oknem Eksperta” z okazji Dnia DNA (<https://www.youtube.com/watch?v=GhMa3P-nxTo>)
- Popularyzacja wyników pracy badawczej w wywiadzie udzielonym sekcji

prasowej Uniwersytetu Śląskiego <http://www.us.edu.pl/badania-genetyczne-nad-tolerancja-jeczmienia-na-susze>

- Popularyzacja wyników pracy badawczej w **wywiadzie udzielonym w Audycji Polskiego Radia:** <https://www.polskieradio.pl/42/5202/Artykul/1774714,Naukowcy-wyhodowali-jeczmien-odporny-na-susze>
- Popularyzacja wyników pracy badawczej w wywiadzie udzielonym **Polskiej Agencji Prasowej (PAP):** <http://naukawpolsce.pap.pl/aktualnosci/news%2C414433%2Cnaukowcy-z-usuzyskali-jeczmiendobrze-znoszacy-susze.html>
- Wygłoszenie wykładu „**Rośliny na krawędzi, czyli jak wykorzystać geny w walce ze stresem suszy**” w ramach VI edycji Ogólnopolskiej Nocy Biologów na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach

2016:

- Przygotowanie i wygłoszenie wykładu „**Kod życia**” inaugurującego V edycję Ogólnopolskiej Nocy Biologów na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach

2013:

- **Organizacja i prowadzenie warsztatów dla młodzieży szkolnej nt. „GMO – czy jest się czego bać”** na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach

2012:

- Prowadzenie zajęć w ramach „Światowego Dnia Roślin (Fascination of Plants Day)” na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach

7) OPRÓCZ KWESTII WYMIENIONYCH W PKT. 1-6, WNIOSKODAWCA MOŻE Podać INNE INFORMACJE, WAŻNE Z JEGO PUNKTU WIDZENIA, DOTYCZĄCE JEGO KARIERY ZAWODOWEJ.

a) Nagrody i wyróżnienia:

- W 2020 roku zostałam laureatką **Nagrody Inteligentnego Rozwoju** w kategorii Naukowiec Przyszłości za realizację badań w ramach projektów SONATA 10 i BARISTA
- W 2017 roku zostałam laureatką **Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców**
- W czasie pracy w Uniwersytecie Śląskim zostałam wyróżniona czterema **nagrodami JM Rektora UŚ za działalność naukowo-badawczą:**
 - **2019 Nagroda Indywidualna II Stopnia** JM Rektora Uniwersytetu Śląskiego za wybitne osiągnięcia naukowe; Uniwersytet Śląski w Katowicach
 - **2017 Specjalna Nagroda Zespołowa** JM Rektora Uniwersytetu Śląskiego za wybitne osiągnięcia naukowe, Uniwersytet Śląski w Katowicach

- **2013 Nagroda Indywidualna III Stopnia** JM Rektora Uniwersytetu Śląskiego za najlepszą rozprawę doktorską w latach 2011-2012; Uniwersytet Śląski w Katowicach
- **2012 Nagroda Zespołowa I Stopnia** JM Rektora Uniwersytetu Śląskiego za działalność badawczą, w szczególności za realizację projektów badawczych; Uniwersytet Śląski w Katowicach
- W 2016 roku i 2018 zostałam **wyróżniona przez Studentów Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska wygrywając konkurs „Złoty Mikroskop” dla najlepszego prowadzącego ćwiczenia** odpowiednio w roku akademickim 2015/2016 (II miejsce) i 2017/2018 (I miejsce); Uniwersytet Śląski w Katowicach. Te nagrody stanowią dla mnie wyjątkowe uznanie ze strony Studentów i są dla mnie dodatkową motywacją w procesie dydaktycznym.

b) Inne informacje:

Od kilku lat jestem aktywnym recenzentem manuskryptów w czasopismach naukowych z listy JCR. Przygotowałam dotychczas w sumie **12 recenzji** w następujących czasopismach:

- *International Journal of Molecular Sciences* (5)
- *Plant Biology* (1)
- *Plant Journal* (2)
- *Photosynthetica* (2)
- *Experimental and Environmental Botany* (2)

Ponadto recenzowałam wnioski projektowe w konkursie **‘Diamentowy Grant’** ogłoszonym przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

c) Kursy i szkolenia:

Przykładam dużą wagę do podnoszenia swoich kwalifikacji i kompetencji zawodowych stąd chętnie korzystam z możliwości udziału w kursach, szkoleniach i warsztatach. Zdobyte w ten sposób kompetencje wdrażam w życie zawodowe.

- 10-11.09.2019** **„Zarządzanie zmianą w obliczu nowej strategii UŚ”** kurs organizowany przez „Nowe Motywacje”, Katowice, Polska
- 14.04.2019** **“Analiza danych smallRNA-seq”** kurs organizowany przez ideas4biology, Uniwersytet Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska
- 06-27.04.2018** **„Projektowanie serwisów internetowych”**
szkolenie w ramach projektu SWAN – Szkolnictwo Wyższe Atrakcyjne i Nowoczesne – Podnoszenie Kompetencji Dydaktycznych Kadry Akademickiej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach środków Europejskiego Funduszu Społecznego, Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój, Oś Priorytetowa III Szkolnictwo wyższe dla gospodarki i rozwoju, Działanie 3.4. Zarządzenie w instytucjach szkolnictwa wyższego
- 05.03.-07.05.2018** **„Poruszanie się w świecie wirtualnych zasobów informacji i usług on-line”**,
szkolenie w ramach projektu SWAN – Szkolnictwo Wyższe Atrakcyjne i Nowoczesne – Podnoszenie Kompetencji Dydaktycznych Kadry Akademickiej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach środków Europejskiego Funduszu Społecznego, Program

Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój, Oś Priorytetowa III Szkolnictwo wyższe dla gospodarki i rozwoju, Działanie 3.4. Zarządzenie w instytucjach szkolnictwa wyższego

- 23-24.10.2017** **“Science Excellence Days 2.0 – Masterclass in Scientific Writing and Publishing”** – szkolenie prowadzone przez Edytorów Nature dla uczestników, którzy pozytywnie przeszli rekrutację na szkolenie
Polska Akademia Nauk, Wrocław, Polska
- 18-19.10.2017** **„Profesjonalna prezentacja”**
Uniwersytet Śląski w Katowicach
szkolenie w ramach projektu SWAN – Szkolnictwo Wyższe Atrakcyjne i Nowoczesne – Podnoszenie Kompetencji Dydaktycznych Kadry Akademickiej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach”, współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach środków Europejskiego Funduszu Społecznego, Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój, Oś Priorytetowa III Szkolnictwo wyższe dla gospodarki i rozwoju, Działanie 3.4. Zarządzenie w instytucjach szkolnictwa wyższego
- 25-28.09.2017** **‘Gamification as a tool in academic teaching’**,
Collegium Wratislaviense, Katowice, Polska
szkolenie w ramach projektu SWAN – Szkolnictwo Wyższe Atrakcyjne i Nowoczesne – Podnoszenie Kompetencji Dydaktycznych Kadry Akademickiej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach”, współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach środków Europejskiego Funduszu Społecznego, Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój, Oś Priorytetowa III Szkolnictwo wyższe dla gospodarki i rozwoju, Działanie 3.4. Zarządzenie w instytucjach szkolnictwa wyższego
- 11-15.09.2017** **“1st Berlin Summer School – NGS Data Analysis 2017 – Introduction to NGS RNA-Seq Data Analysis DNA Variant Calling”**
ecSeq Bioinformatics Berlin, Germany
- 08-09.04.2017** **“Introduction to RNA-Seq analysis”** kurs organizowany przez ideas4biology, Uniwersytet Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO

Okres	Rodzaj publikacji	Liczba publikacji	Wskaźnik IF*	Punkty MNiSW ²	Liczba cytowań ³ (Web of Science)	Liczba cytowań ³ (Google Scholar)
Przed uzyskaniem stopnia doktora	Lista JCR ¹	2	3.83	170	121	211
	Osiągnięcie naukowe (JCR)	8	47.76	1020	248	424
Po uzyskaniu stopnia doktora	Pozostałe z listy JCR	10	37.55	1100	237	326
	Rozdziały w monografiach	4	-	20	14	77
Sumarycznie		24	89.14	2310	620	1038

¹Journal Citation Reports, Thomson Reuters,

² punktacja MNiSW według wykazu obowiązującego od 18 grudnia 2019 roku,

³Dane z baz cytowań z dnia 12 stycznia 2021

*sumaryczny wskaźnik Impact Factor publikacji naukowych według listy JCR (zgodnie z rokiem opublikowania)

Indeks Hirscha (dla wszystkich publikacji): 10 (wg Web of Science²); 12 (wg Google Scholar²)

Katowice, dn. 10.01.2021


(podpis wnioskodawcy)