

AUTOREFERAT

dr Halina Ślesak
Wydział Biologii i Nauk o Ziemi
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Kraków 2017

1. Imię i Nazwisko

Halina Ślesak (z domu Bogunia)

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

2002 – doktor nauk biologicznych w zakresie biologii (praca doktorska z wyróżnieniem), Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński

„Wpływ cukrów na rozwój zarodka, produkcję kalusa i regenerację *in vitro* u wybranych odmian rzepaku (*Brassica napus* L.)”

Promotor: prof. dr hab. Lesław Przywara

Recenzenci:

prof. dr hab. Elżbieta Kuta (Uniwersytet Jagielloński, Kraków)

prof. dr hab. Zbigniew Miszański (Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk, Kraków)

1996 – magister biologii (studia ukończone z wyróżnieniem), Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński

„Wpływ różnych cukrów na indukcję kalusa i organogenezę u *Brassica napus* L.”

Promotor: prof. dr hab. Lesław Przywara

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

od 1.10.2006 – adiunkt, Zakład Cytologii i Embriologii Roślin, Instytut Botaniki, Uniwersytet Jagielloński

1.10.2003 – 30.09.2006 – asystent, Zakład Cytologii i Embriologii Roślin, Instytut Botaniki, Uniwersytet Jagielloński

1.11. 2002 – 30.09.2003 – asystent naukowy (½ etatu), Zakład Cytologii i Embriologii Roślin, Instytut Botaniki, Uniwersytet Jagielloński

1.10.1997 – 30.09.2002 – studia doktoranckie, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński

1.10.1996 – 30.09.1997 – asystent, Zakład Cytologii i Embriologii Roślin, Instytut Botaniki, Uniwersytet Jagielloński

1.08.1996 – 30.09.1996 – starszy referent inżynierjno-techniczny, Zakład Cytologii i Embriologii Roślin, Instytut Botaniki, Uniwersytet Jagielloński

*W latach 2001/2002 oraz 2007 przebywałam na urloпах macierzyńskich

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

4.1 tytuł osiągnięcia naukowego

Genetyczne i fizjologiczne aspekty morfogenezy in vitro u przedstawicieli rodzaju Rumex

4.2 publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego (autorzy, rok wydania, tytuł publikacji, nazwa wydawnictwa)

1. **Ślesak H.***, Liszniańska M., Popielarska-Konieczna M., Góralski G., Sliwiska E., Joachimiak A. J. 2014. Micropropagation protocol for the hybrid sorrel *Rumex tianschanicus* x *Rumex patientia*, an energy plant. Histological, SEM and flow cytometric analyses. Industrial Crops and Products 62: 156-165

IF₂₀₁₄=2.837

IF_{5 letni}=3.577

punkty MNiSW=40

2. **Ślesak H.***, Góralski G., Kwolek D., Dziedzic K., Grabowska-Joachimiak A. 2015. Male adventitious roots of *Rumex thyrsoiflorus* Fingerh. as a source of genetically stable micropropagated plantlets. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 123:193–203

IF₂₀₁₅=2.390

IF_{5 letni} = 2.001

punkty MNiSW=30

3. **Ślesak H.***, Dziedzic K., Kwolek D., Cygan M., Mizia P., Olejniczak P., Joachimiak A. J. 2017a. Female versus male – *Rumex thyrsoiflorus* Fingerh. under in vitro conditions. Does sex influence in vitro morphogenesis? Plant Cell Tissue and Organ Culture 129:521–532

IF₂₀₁₆=2.002

IF_{5 letni} = 2.001

punkty MNiSW=30

4. **Ślesak H.***, Liszniańska M., Ślesak I., Kozieradzka-Kiszkurno M., Popielarska-Konieczna M., Joachimiak A. J. 2017b. Rooting affects the photosystem II activity: in vitro and ex vitro studies on energy hybrid sorrel. Acta Physiologiae Plantarum 39:210

IF₂₀₁₆=1.364

IF_{5 letni} = 1.681

punkty MNiSW=25

*autor korespondencyjny

Sumarycznie:

IF=**8.593**

IF_{5 letni}=**9.26**

punkty MNiSW=**125**

(IF – dane z roku opublikowania, IF_{5 letni} – dane z roku 2016, punkty MNiSW – dane z roku 2016)

4.3 omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wprowadzenie

Celem podjętych przeze mnie badań, których wyniki przedstawiono w czterech oryginalnych pracach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego (**pkt 4.2 poz.1-4**), było

określenie czynników warunkujących morfogenezę *in vitro* u wybranych przedstawicieli rodzaju *Rumex*. Badania, głównie cytogenetyczne, nad przedstawicielami tego rodzaju prowadzone są w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego od wielu lat. W związku z moimi zainteresowaniami naukowymi dotyczącymi roślinnych kultur *in vitro*, podjęłam się wykonania analizy genetyczno-molekularnej, histologicznej i fizjologicznej procesu morfogenezy w warunkach *in vitro* u dwóch przedstawicieli rodzaju *Rumex*: *Rumex thyrsoiflorus* oraz mieszańca *R. tianschanicus* x *R. patientia*. Badania tego typu nie były dotąd prowadzone a wybór wymienionych gatunków podyktowany był ich istotnym znaczeniem zarówno w badaniach podstawowych jak i aplikacyjnych.

Rumex thyrsoiflorus Fingerh. (szczaw rozpierschły) jest gatunkiem dwupiennym z polimorficznymi chromosomami płci (osobniki żeńskie: $2n=12A+XX$, osobniki męskie: $2n=12A+XY_1Y_2$) (Żuk 1963), co czyni go modelowym gatunkiem w badaniach nad strukturą i funkcją chromosomów płci oraz zaburzoną proporcją płci w populacjach i nasionach (Rychlewski i Zarzycki 1986, Kwolek i Joachimiak 2011, Grabowska-Joachimiak i wsp. 2012). Gatunek ten jest ważny z farmakologicznego punktu widzenia. Aktywność biologiczna *R. thyrsoiflorus* jest związana z obecnością kwasów fenolowych, flawonoidów, tanin czy antrachinonów, natomiast uzyskane z niego ekstrakty wykazują m. in. działanie antyseptyczne, przeciwzapalne, uspokajające, nasenne, przeciwbólowe i przeciwnowotworowe (Litvinenko i Muzychkina 2008). Dla tego gatunku wykazano również aktywność antyproliferacyjną w stosunku do komórek rakowych (Lajter i wsp. 2013) jak i inhibującą namnażanie się wirusa *Herpes simplex* typu-1 (Gescher i wsp. 2011).

Kolejnym obiektem prowadzonych przeze mnie badań był *Rumex tianschanicus* x *Rumex patientia*, nazywany szczawiem Uteusha. Jest to krzyżówka angielskiego szpinaku (*R. patientia* L., matka) oraz szczawiu Tien Shan (*R. tianschanicus* A. Los., ojciec) (Ust'ak i Ust'aková 2004, Havlíčková i Suchý 2010), będąca obiecującą rośliną energetyczną używaną w komercyjnej produkcji biomasy (biogaz, pelety, brykiety) (Myšková i wsp. 2011, Heděnc i wsp. 2014). Znajduje ona ponadto zastosowanie w fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi (Zhuang i wsp. 2005) oraz medycynie, ze względu na wspomnianą powyżej zawartość substancji biologicznie aktywnych (m. in. karotenoidy, flawonoidy, kwas askorbinowy, kwas linolenowy).

W ostatnich latach techniki roślinnych kultur *in vitro* są intensywnie stosowane w mikrorozmnażaniu gatunków ważnych z medycznego punktu widzenia, będących źródłem komponentów dla przemysłu farmaceutycznego (Parveen i Shahzad 2011). W takim

przypadku opracowanie wydajnego systemu regeneracji jest niezbędne do późniejszych analiz biochemicznych i selekcji materiału roślinnego o potencjalnym znaczeniu medycznym. Rośliny hodowane w warunkach polowych mogą być narażone na sezonowe i somatyczne zmiany, infekcje grzybowe, bakteryjne czy też zanieczyszczenie środowiska, co może wpływać na wartość farmakologiczną hodowanych tkanek (Liu i wsp. 2003). W celu ulepszenia cech roślin przez genetyczną modyfikację, z użyciem metod biotechnologicznych, istnieje potrzeba opracowywania technik mikropropagacji, które umożliwiają wydajną, długoterminową regenerację materiału roślinnego wysokiej jakości (Kumar i Reddy 2012) oraz jednolitego genetycznie do badań fizjologicznych i biochemicznych (Turker i wsp. 2008).

Cel badań i opis uzyskanych wyników

Celem eksperymentów zaprezentowanych w publikacji Ślesak i wsp. (2015) (**pkt 4.2 poz. 2**), stanowiącej podstawę osiągnięcia naukowego, było opracowanie prostego i wydajnego protokołu mikropropagacji *Rumex thyrsoiflorus*, w połączeniu z określeniem typu morfogenezy na podstawie analizy histologicznej oraz z oszacowaniem stabilności genetycznej uzyskanych regenerantów z wykorzystaniem markerów molekularnych. W zakresie prowadzonych badań została nawiązana współpraca z Katedrą Hodowli Roślin i Nasiennictwa Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Jako eksplantaty hodowlane zastosowano męskie korzenie przybyszowe pochodzące z długoterminowej płynnej kultury. Warto podkreślić, że korzenie są głównym materiałem roślinnym wykorzystywanym w farmakologii do produkcji leków (Sudha i Seeni 2001), dodatkowo charakteryzują się wysokim potencjałem regeneracyjnym (Franklin i wsp. 2004). W przypadku roślin z chromosomami płci, do których należą m.in. występujące w Polsce gatunki *Rumex* z sekcji *Acetosa* (*R. acetosa*, *R. thyrsoiflorus*, *R. arifolius*), opracowanie metody mikropropagacji in vitro z tego typu eksplantatów oferuje unikatową możliwość otrzymywania klonów tej samej płci, co jest niezwykle przydatne w badaniach cytogenetycznych i genetycznych. Długoterminową, płynną kulturę męskich korzeni przybyszowych szczawiu (opisaną jako kulturę korzeni *R. acetosa*) uzyskano w 2005 roku (Mosiołek i wsp. 2005). Celem podjętej wstępnej analizy molekularnej opartej na płciowo- i gatunkowo-specyficznych markerach DNA, opracowanych przez Grabowska-Joachim i wsp. (2012), była weryfikacja płci korzeni przybyszowych pochodzących z wyżej wymienionej kultury płynnej i ustalenie, czy są to korzenie *R. acetosa* czy też *R. thyrsoiflorus*. Powszechnie wiadomo, że *R. thyrsoiflorus* jest morfologicznie podobny do *R. acetosa* (gatunki

te są trudne do rozróżnienia) i często *R. thyrsoiflorus* bywa niesłusznie traktowany przez badaczy jako podgatunek [*R. acetosa* subsp. *thyrsoiflorus* (Fingerh.) Hayek] (Kwolek i Joachimiak 2011). Wykonana analiza, oparta na reakcji PCR, obejmowała markery DNA zlokalizowane na chromosomach Y. Zastosowano następujące startery opracowane przez Korpelainen (2002): RAY-F (5'-ACTCGAATGTAAGCATTTGGTCCTA-3') i RAY-R (5'-ACTACACGATTGTCCATAAAGTGGA-3'), amplifikujące męsko-specyficzną sekwencję RAYSI obecną na chromosomach Y *R. acetosa* i jego bliskich krewnych (Navajas- Peréz i wsp. 2006). Dodatkowo, zastosowano UGR08-F (CCAATTGGTCTCAACTAGAA CA) i UGR08-R (TGTTATAGGTTTTGGACTGCCA), które są markerami dla męsko-specyficznej repetytywnej sekwencji RAYSII u *R. acetosa* L. (Mariotti i wsp. 2009). W celu weryfikacji jakości matrycowego DNA, przeprowadzono amplifikację ze starterami R730-A (5'-CTCGGACCAATTATCTCAT-3') i R730-B (5'-CATTATTTGGGAGCCGAT-3') (Navajas- Peréz i wsp. 2005). Startery te amplifikują repetytywną sekwencję RAE730, zlokalizowaną na autosomach *Rumex*. Według Grabowska-Joachimiak i wsp. (2012), rezultaty amplifikacji sekwencji RAYSII przy zastosowaniu starterów UGR08-F i UGR08-R różnią się pomiędzy *R. acetosa* i *R. thyrsoiflorus* obecnością pojedynczego produktu (700 bp) u *R. acetosa* i obecnością dwóch produktów (600 bp i 700 bp) u *R. thyrsoiflorus*. W czasie wykonanej analizy, amplifikacja sekwencji RAYSII z tymi starterami dała wynik w postaci produktu 700 bp we wszystkich analizowanych korzeniach, co wskazuje, że badane eksplantaty były płci męskiej. Dodatkowo wykazano obecność produktu o wielkości około 600 bp, co umożliwiło ostateczną weryfikację materiału badawczego jako *R. thyrsoiflorus*. Warto podkreślić, że korzenie przybyszowe z płynnej kultury, użyte jako eksplantaty w opisywanym eksperymencie, były na wcześniejszych etapach ich wzrostu opisane jako kariologicznie stabilne. Według Mosiołek i wsp. (2005), nie zanotowano w nich zaburzeń mitozy a wszystkie analizowane komórki posiadały 15 chromosomów (12 autosomów + XY₁Y₂), o standardowej morfologii. Uzyskane pozytywne wyniki reakcji ze starterami UGR08 i RAY wykazały, że wszystkie analizowane korzenie utrzymały chromosomy Y poprzez 8 lat kultury in vitro. Wszystkie rośliny zregenerowane z tych korzeni i aklimatyzowane do warunków polowych były osobnikami typowo męskimi, produkującymi tylko i wyłącznie kwiaty wyposażone w pręciki (Ślesak i wsp. 2015). To dodatkowo wskazuje na brak większych zmian w pozostałych chromosomach, ponieważ płęć u *R. acetosa* i jego bliskich krewnych zależy od stosunku autosomów do chromosomów X (Parker i Clark 1991). Jest to interesująca obserwacja, ponieważ kultury in vitro roślin, szczególnie długotrwałe, charakteryzują się zwykle dość szybką utratą stabilności cytotetycznej (Bayliss 1980).

Wraz z zespołem badawczym z sukcesem opracowaliśmy powtarzalny protokół mikropropagacji dla *R. thyrsoflorus*, gwarantujący wysokowydajną regenerację roślin z kalusa uzyskanego z opisanych powyżej korzeni. Wykazano, że męskie korzenie przybyszowe uzyskane z długoterminowej kultury płynnej (8 lat) posiadają wysoki potencjał regeneracyjny, gwarantujący uzyskiwanie pędów przybyszowych (Ślesak i wsp. 2015). Warto podkreślić, że według naszej wiedzy jest to jedyny opisany przypadek uzyskania odpowiedzi morfogenetycznej eksplantatów po tak długim czasie hodowli in vitro. Zwykle obserwuje się utratę potencjału regeneracyjnego eksplantatów wraz ze starzeniem kultury, ze względu na zmiany genetyczne i epigenetyczne. Najlepszą odpowiedź morfogenetyczną (największa wydajność w indukcji pędów przybyszowych i największa średnia liczba pędów/eksplantat) uzyskano na pożywce MS (Murashige i Skoog, 1962) wzbogaconej o 0,5 mg/l TDZ (thidiazuron). Analiza histologiczna wykazała, że morfogeneza przebiegała drogą pośredniej (via kalus) organogenezy. Dodatkowo zaobserwowano, że komórki kalusa morfogenne były otoczone przez fibrylarną strukturę podobną do ECM (ang. extracellular matrix). Obecność ECM stwierdzono w roślinnych kulturach in vitro u wielu gatunków. Uważa się, że struktura ta może być formowana na powierzchni tkanek hodowanych w warunkach in vitro, niezależnie od kompetencji morfogennych tkanki, jako odpowiedź na warunki stresowe lub jako warstwa ochronna przed działaniem czynników zewnętrznych (Pilarska i wsp. 2014, Ślesak i wsp. 2014). ECM uznawana jest także za marker somatycznej embriogenezy (Namasivayam i wsp. 2006) i organogenezy (Popielarska-Konieczna i wsp. 2008, 2010). Funkcja ta została potwierdzona w naszym eksperymencie, podczas którego zaobserwowano obecność ECM o charakterze fibrylarnym w bezpośrednim sąsiedztwie morfogennych komórek kalusa (Ślesak i wsp. 2015).

Bardzo istotnym zagadnieniem związanym z mikrorozmnażaniem, którym zajęto się w następnej kolejności, jest zapewnienie stabilności genetycznej zregenerowanych roślin w celu otrzymania odpowiedniej jakości klonów, co jest istotne ze względów komercyjnych jak i związanych z zastosowaniem w biotechnologii (Eshraghi i wsp. 2005). Stabilność genetyczna korzeni przybyszowych pochodzących z płynnej kultury, które posłużyły jako eksplantaty hodowlane, tkanki kalusowej i zregenerowanych z korzeni roślin zbadano z zastosowaniem opartej na reakcji PCR metodzie RAPD (ang. *random amplified polymorphic DNA*). Metoda ta jest z powodzeniem stosowana jako wydajne narzędzie w szacowaniu stabilności genetycznej w roślinnych kulturach tkankowych (Razaq i wsp. 2013, Cheruvathur i Thomas 2014). W czasie przeprowadzonego eksperymentu, na podstawie analizy profilu RAPD, stwierdzono bardzo wysoki stopień podobieństwa pomiędzy korzeniami, kalusem z nich

wyprowadzonym a zregenerowanymi roślinami. Większość zastosowanych starterów wykazała profile DNA identyczne z tymi pochodzącymi z korzeni przybyszowych użytych jako eksplantaty. Spośród 110 uzyskanych produktów amplifikacji, zaledwie siedem (6.36 %) było polimorficznych (Ślesak i wsp. 2015). Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, z całą pewnością można stwierdzić, że opracowany system regeneracji, pomimo formowania tkanki kalusowej, charakteryzuje się wysoką stabilnością genetyczną, a regeneranty nie wykazują żadnych widocznych zmian w morfologii. Nie można wykluczyć, że tylko komórki kalusa pozbawione mutacji mogą posiadać potencjał morfogenetyczny i tylko te komórki są faworyzowane w czasie organogenezy. Wyniki te są bardzo interesujące i ważne, ponieważ powszechnie uważa się regenerację *via* kalus jako niepożądaną drogę morfogenezy, z powodu niestabilności tkanki kalusowej, zarówno na poziomie chromosomów jak i DNA (Mizia i wsp. 2014). Niewykluczone, że w przypadku korzeni, w długoterminowej kulturze *in vitro* wystąpił pewien typ selekcji, którego skutkiem było przetrwanie klonów najbardziej stabilnych genetycznie. Tak czy inaczej, kultura korzeni przybyszowych *R. thyrsiflorus* może być uznana za znakomite źródło materiału do produkcji genetycznie stabilnych klonów, co wydaje się być szczególnie cenne w badaniach podstawowych i aplikacyjnych.

Podsumowując, opisane badania pozwoliły na opracowanie nowego, prostego i powtarzalnego protokołu pośredniej regeneracji pędów przybyszowych z korzeni z gwarancją wysokowydajnego namnażania genetycznie stabilnych regenerantów *R. thyrsiflorus*. Według naszej wiedzy publikacja ta (Ślesak i wsp. 2015) stanowi pierwsze tego typu doniesienie dotyczące kultury tkankowej *R. thyrsiflorus*, która oferuje unikatową możliwość otrzymywania klonów tej samej płci.

Jak wspomniano we wstępie, *R. thyrsiflorus* jako roślina dwupienna z polimorficznymi chromosomami płci jest interesującym obiektem badań dotyczących proporcji płci, zarówno pierwotnej (nasiona) jak i wtórnej (populacja). Zaburzona proporcja płci jest interesującym zjawiskiem obserwowanym w populacjach dwupiennych gatunków. W przypadku chromosomowej determinacji płci oczekuje się pierwotnej proporcji płci 1:1 (Korpelainen 2002). U dojrzałych płciowo osobników męskich i żeńskich, proporcja ta może być wtórnie zaburzona z powodu różnic w kiełkowaniu, kwitnieniu, śmiertelności, czy też może być warunkowana dodatkowymi mechanizmami genetycznymi. Analiza proporcji płci u 243 gatunków roślin kwiatowych, reprezentujących 123 rodzaje i 61 rodzin, przeprowadzona przez Field i wsp. (2012), wykazała znaczne zaburzenia proporcji płci u 50,2% analizowanych gatunków z dominacją osobników męskich w porównaniu do żeńskich (odpowiednio 31,3% i 18,9%). Przyczyną takiego zjawiska mogą być wyższe koszty

rozmnażania w przypadku osobników żeńskich w porównaniu do osobników męskich, co jest związane np. z produkcją nasion. Skutkiem takiej sytuacji może być ich ograniczony wzrost, wyższa śmiertelność czy też opóźnione kwitnienie (Stehlik i Barret 2005). Przyczyną obecności większej ilości osobników męskich w młodych populacjach może być też wcześniejsze uzyskanie zdolności reprodukcyjnych w przypadku tej płci (Ueno i wsp. 2007). Jak donoszą Barrett i wsp. (2010), wszelkie odstępstwa od równej proporcji płci mogą wynikać z różnych mechanizmów i mogą odzwierciedlać interakcje pomiędzy związanymi z płcią różnicami w kosztach reprodukcji, historią życia i czynnikami ekologicznymi (Field i wsp. 2013). Zwykle dane związane z proporcją płci dotyczą roślin kwitnących, ponieważ w innym przypadku trudno jest ustalić płeć osobników bez genetycznych markerów płci. Podobnie, trudno w takiej sytuacji wykluczyć związane z płcią różnice w żywotności nasion (Pickup i Barrett 2013). Z tego powodu, badania dotyczące pierwotnej proporcji płci (nasiona) i zaburzonej proporcji płci we wczesnych etapach rozwojowych roślin są ograniczone (Stehlik i Barrett 2005, Stehlik i wsp. 2007). Opisana przez Field i wsp. (2013) znaczna niejednorodność w proporcji płci wśród dwupiennych roślin kwiatowych zdaje się odzwierciedlać m. in. demograficzne cechy populacji czy też różną odpowiedź płci na stres środowiskowy. Autorzy zaobserwowali zwiększony udział osobników męskich w populacjach w środowisku suchym i na większych wysokościach, co może wskazywać na zredukowany wzrost i wskaźnik przeżycia osobników żeńskich w bardziej stresujących warunkach. Z kolei Chaurasia i Shukla (2016) wykazali, że dominacja płci żeńskiej u *Trewia nudiflora* była prawdopodobnie odpowiedzią na większą wilgotność gleby i lepsze warunki świetlne. Według Stehlik i Barrett (2005), wyższa śmiertelność osobników męskich może być obserwowana u *Rumex nivalis* w warunkach stresowych.

U *Rumex thyrsoiflorus* i *R. nivalis* dominacja osobników żeńskich w populacjach wzrasta w czasie trwania cyklu życiowego (Rychlewski i Zarzycki 1986, Stehlik i wsp. 2007). Badania nad *R. nivalis* wykazały interesującą zależność pomiędzy wysokością geograficzną i proporcją płci (Stehlik i Barrett 2005). Chociaż proporcja płci w nasionach była tylko lekko zaburzona na niskich wysokościach n. p. m., w przypadku osobników dorosłych obserwowano wyraźną przewagę osobników żeńskich w populacji, co wskazuje, że warunki ekologiczne mogą być przyczyną śmiertelności osobników płci męskiej. Przeciwnie, na większych wysokościach geograficznych różnice w proporcji płci nasion i osobników dorosłych nie były istotne, co wskazuje na spadek śmiertelności osobników męskich w trudniejszych, alpejskich warunkach. Badania oparte na reakcji PCR dotyczące płci nasion *R. thyrsoiflorus* i *R. acetosa*, z zastosowaniem markerów DNA zlokalizowanych na

chromosomach Y (Kwolek i Joachimiak 2011), ujawniły dominację płci żeńskiej. W populacjach eksperymentalnych *R. acetosa* i *R. thyrsoiflorus*, proporcje płci w obrębie osobników dorosłych były bardziej przesunięte w stronę żeńską niż w przypadku nasion i siewek, co potwierdzono w badaniach cytologicznych (Rychlewski i Zarzycki 1986) oraz z zastosowaniem męsko-specyficznych markerów genetycznych (Korpelainen 2002). Według Rychlewskiego i Zarzyckiego (1986), dominacja żeńskich nasion może być efektem większej śmiertelności męskich zygot lub zarodków, ale różny wskaźnik przeżycia wydaje się być czynnikiem, który przede wszystkim wpływa na proporcje płci w populacjach *R. thyrsoiflorus*. Stehlik i Barrett (2005) stwierdzili, że męskie nasiona *R. nivalis* były znacznie cięższe niż nasiona żeńskie. Eksperymenty szklarniowe wykazały, że pomimo wcześniejszego kiełkowania męskich nasion, osobniki żeńskie rozwijały więcej pędów, dodatkowo liście pojawiały się u nich szybciej i były większe w porównaniu do osobników męskich. Przedstawione powyżej wyniki badań dotyczących dominacji płci żeńskiej u przedstawicieli rodzaju *Rumex* skłoniły nas do zastanowienia się nad reakcją morfogenetyczną eksplantatów męskich i żeńskich w warunkach kultury in vitro.

W związku z tym podjęto badania, których dotyczy kolejna publikacja stanowiąca podstawę osiągnięcia naukowego (Ślesak i wsp. 2017a) (**pkt 4.2 poz. 3**). Postanowiono opracować procedurę regeneracji z hypokotyli męskich i żeńskich dla *Rumex thyrsoiflorus* w warunkach in vitro w celu uzyskania odpowiedzi na następujące pytania: 1) czy istnieją związane z płcią różnice w tempie kiełkowania nasion i w wielkości siewek? 2) Czy męskie i żeńskie nasiona mają różny przebieg kiełkowania? 3) Czy płeć wpływa na morfogenezę w warunkach in vitro? 4) Czy istnieje zależność pomiędzy płcią eksplantatu, jego zdolnością do morfogenezy a rodzajem egzogenego roślinnego regulatora wzrostu dodawanego do pożywki hodowlanej?

W czasie przeprowadzonych eksperymentów potwierdzono użyteczność starterów RAY-F and RAY-R (Korpelainen 2002) (opisanych szczegółowo powyżej) w identyfikacji płci siewek i hypokotyli *R. thyrsoiflorus*. Analiza molekularna kiełkujących siewek *R. thyrsoiflorus* wykazała dominację płci żeńskiej (M:F =1:2.19). W czasie prowadzonych eksperymentów in vitro, nasiona były kiełkowane na sterylnej bibule, w jednakowych warunkach pod względem wilgotności, światła i temperatury. Kiełkowanie nasion badano przez 11 dni, rejestrując liczbę dni, która upłynęła od wysiewu do pojawienia się korzeni i liścieni w nasionach płci męskiej i żeńskiej. Nie zanotowano różnic w tempie kiełkowania nasion męskich i żeńskich ani w

długości siewek różnych płci. Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują na brak współzawodnictwa pomiędzy płciami w kiełkowaniu nasion, kiedy poddane są one działaniu jednakowych warunków wzrostu, takich jak temperatura, wilgotność i oświetlenie.

Jako pierwsi opracowaliśmy pełny protokół mikrorozmnażania *R. thyrsiflorus* z hypokotyli męskich i żeńskich. Procedura ta może być bardzo przydatna dla hodowców i naukowców do rozmnażania klonalnego, badań fizjologicznych i w otrzymywaniu substancji biologicznie aktywnych zależnie od płci eksplantatów.

Największą częstotliwość eksplantatów wykazujących odpowiedź morfogenetyczną, z największą liczbą zregenerowanych pędów przybyszowych zanotowano na pożywce MS zawierającej 0,5 mg/l TDZ. Tidiazuron należy do roślinnych regulatorów wzrostu, powodujących zwiększoną akumulację auksyn i cytokinin w hodowanym materiale i mogących działać jako substytut tych dwóch hormonów (Murch i Saxena 2001).

Analiza histologiczna i SEM (ang. *Scanning Electron Microscope*) wykazała pośrednią (*via* kalus) organogenezę. Zaobserwowano również wtórną organogenezę. Dodatkowo, uzyskano również odpowiedź morfogenetyczną w postaci somatycznej embriogenezy, jednak ograniczoną tylko do męskich hypokotyli hodowanych na pożywce MS wzbogaconej o 2 mg/l 2,4-D (kwas 2,4-dwuchlorofenoksyoctowy) i 2 mg/l BAP (6-benzylaminopuryna) oraz 5% sacharozę. Wyniki eksperymentów wykazały, że wydajność morfogenezy różni się w zależności od płci eksplantatu i jest uzależniona od proporcji auksyn i cytokinin w pożywce hodowlanej. Wyższą odpowiedź morfogenetyczną eksplantatów żeńskich zaobserwowano na pożywce wzbogaconej auksyną i cytokininą (2,4-D i BAP) w podobnych stężeniach oraz na pożywce zawierającej auksynę w dwukrotnie wyższym stężeniu w porównaniu do stężenia cytokininy. Przeciwna reakcja była obserwowana na pożywkach wzbogaconych dwukrotnie wyższym stężeniem cytokinin w porównaniu do stężenia auksyn. W tym ostatnim przypadku zanotowano wyraźny spadek udziału żeńskich eksplantatów wśród eksplantatów morfogenicznych. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, można przypuszczać, że różny poziom endogennych regulatorów wzrostu w hypokotylach płci męskiej i żeńskiej, może determinować ich potencjał morfogenetyczny w warunkach in vitro.

Opracowana procedura mikropropagacji *R. thyrsiflorus* z hypokotyli, może być bardzo użyteczna do analizy zależnych od płci reakcji morfogenetycznych w warunkach in vitro. Wykonana analiza molekularna, oparta na genetycznych markerach płci, umożliwia określenie płci eksplantatów w celu wyprowadzenia kultury in vitro z eksplantatów konkretnej płci.

Uzyskane, bardzo interesujące wyniki, otwierają nowe perspektywy badawcze dotyczące różnic fizjologicznych pomiędzy eksplantatami męskimi i żeńskimi. Niewykluczone, że zróżnicowana reakcja morfogenetyczna w warunkach in vitro osobników różnej płci może być determinowana przez obecność zależnych od płci białek odporności na stres, enzymów antyoksydacyjnych, czy też przez różnice w poziomie endogennych regulatorów wzrostu. Bardzo obiecująco wyglądają wyniki badań prowadzonych przez doktorantkę mgr Katarzynę Dziedzic, która pozostaje pod moją opieką jako promotora pomocniczego. Wstępna analiza zawartości związków biologicznie aktywnych (kwasy fenolowe i flawonoidy) wykonana metodą HPLC (ang. *high-performance liquid chromatography*) roślin zregenerowanych in vitro na pożywce MS z dodatkiem 0,5 mg/l TDZ wykazała zależne od płci różnice jakościowe i ilościowe w produkcji wyżej wymienionych związków. Hiperozyd, rutyna, kwas cynamonowy były obecne tylko u męskich regenerantów, podczas gdy kwas neochlorogenowy, kawowy i epikatechinę stwierdzono wyłącznie u regenerantów żeńskich. Uzyskane wyniki pozwalają stanowczo twierdzić, że opracowany protokół mikropropagacji z męskich i żeńskich eksplantatów *R. thyrsoiflorus* ma nie tylko istotne znaczenie naukowe, ale również może być ekonomicznie uzasadniony z farmakologicznego i medycznego punktu widzenia, dając możliwość zwiększenia produkcji konkretnych substancji biologicznie aktywnych poprzez np. modyfikację składu pożywki hodowlanej.

Warto zaznaczyć, że omawiana publikacja (Ślesak i wsp. 2017a) zaowocowała zaproszeniem ze strony edytora Plant Cell, Tissue and Organ Culture do napisania pracy przeglądowej dotyczącej zagadnień: płeć a hormony egzogenne in vitro.

Efektom zainteresowania *R. tianschanicus* x *R. patientia*, jako obiecującą rośliną energetyczną, było podjęcie badań, których wyniki przedstawiono w publikacji Ślesak i wsp. (2014) (*pkt 4.2 poz. 1*), stanowiącej podstawę osiągnięcia naukowego. Uznano, że opracowanie wydajnej metody indukcji morfogenezy in vitro otworzy m. in. możliwości ulepszenia cech tej rośliny energetycznej np. przez modyfikacje genetyczne z użyciem metod biotechnologicznych. Do tego celu najlepsza jest procedura, dająca gwarancję braku zmienności somaklonalnej, oparta na bezpośredniej morfogenezie (bez formowania tkanki kalusowej), co dodatkowo znacznie skraca czas potrzebny na regenerację oraz daje możliwość łatwej i szybkiej produkcji materiału jednolitego pod względem genetycznym.

Dodatkowo opracowany układ doświadczalny oferuje możliwość prowadzenia badań fizjologicznych szczawiu Uteusha, jako rośliny o intensywnym przyroście biomasy. Podjęte doświadczenia, dotyczące mikropropagacji, skorelowano z określeniem typu morfogenezy na podstawie analizy histologicznej i SEM oraz z określeniem zawartości jądrowego DNA z

użyciem cytometrii przepływowej u roślin donorowych i zregenerowanych. W zakresie tych badań nawiązana została współpraca z Katedrą Genetyki i Biotechnologii Roślin, Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy.

W trakcie przeprowadzonych, żmudnych eksperymentów opracowano wysoko wydajną i powtarzalną metodę regeneracji mieszańca energetycznego poprzez bezpośrednie formowanie pędów przybyszowych z hypokotyli. Najwyższą częstotliwość odpowiedzi organogenetycznej uzyskano z 7 i 12 dniowych hypokotyli hodowanych na pożywce MS wzbogaconej o 0.17 mg/l IAA, 2.2 mg/l BAP i 2% sacharozę. Ukorzenione z sukcesem regeneranty aklimatyzowano do warunków *ex vitro* z prawie 100% wydajnością. Zastosowanie różnorodnych technik badawczych pozwoliło na kompleksową analizę morfogenezy *in vitro* u mieszańca. Analiza histologiczna hodowanego materiału wykazała bezpośrednią organogenezę. Pędy przybyszowe indukowane były z tkanek walca osiowego a także ze zregenerowanych liści (wtórna organogeneza). Pierwsze podziały komórkowe w prokambium widoczne były już po 7 dniach kultury, a po 21 dniach zanotowano indukcję pędów przybyszowych. Zarówno analiza histologiczna jak i SEM wykazała obecność heterogenicznego materiału pokrywającego powierzchnię kalusa, przypominającego macierz zewnątrzkomórkową (ECM). Niektóre regiony niemorfogenego kalusa były pokryte gładką, błoniastą warstwą, niektóre natomiast warstwą fibrylną ECM. Jak opisano powyżej, ECM może pełnić w kulturach *in vitro* funkcję markera somatycznej embriogenezy oraz organogenezy. W przypadku badanego materiału stwierdzono obecność ECM na powierzchni kalusa niemorfogenego, co wskazuje, że struktura ta mogła być, w tym przypadku, formowana jako odpowiedź na warunki stresowe (warstwa ochronna przed czynnikami zewnętrznymi).

Analiza cytometryczna zawartości jądrowego DNA wykazała brak statystycznie istotnych różnic w zawartości 2C jądrowego DNA (ok. 4.6 pg/2C) pomiędzy roślinami donorowymi, z których pobrano eksplantaty i regenerantami uzyskanymi drogą organogenezy w warunkach *in vitro*, co potwierdza, że opracowany protokół pozwala na utrzymanie stabilności zawartości jądrowego DNA. Jest to jednocześnie pierwsze doniesienie dotyczące oszacowania zawartości 2C jądrowego DNA dla tego mieszańca (Ślesak i wsp. 2014).

Według naszej wiedzy do tej pory nie opublikowano żadnych doniesień dotyczących *R. tianschanicus* x *R. patientia* w warunkach *in vitro*, co może wskazywać na innowacyjność przeprowadzonych badań. Część eksperymentów w trakcie przeprowadzonych analiz dotyczyła wpływu rodzaju i stężenia cukru zawartego w pożywce hodowlanej na morfogenetyczną odpowiedź szczawiu energetycznego. Powszechnie wiadomo, że

węglowodany są podstawowymi biomolekułami niezbędnymi do wzrostu i rozwoju roślin w warunkach *in vitro* (Bogunia i Przywara 2000, Ślesak i Przywara 2003). Interesujące wyniki w kontekście roli cukrów jako cząsteczek sygnałowych, które aktywują/dezaktywują specyficzne geny dwóch głównych szlaków metabolicznych, takich jak fotosynteza i oddychanie uzyskano w pracy Ślesak i wsp. (2006). Wyniki eksperymentów dotyczących mieszańca energetycznego, potwierdziły, że rodzaj cukru zawartego w pożywce hodowlanej w znacznym stopniu determinuje odpowiedź morfogenetyczną eksplantatu. Spośród przebadanych typów węglowodanów w przypadku szczawiu Uteusha, sacharoza była najbardziej efektywna w indukcji organogenezy, podczas gdy brak odpowiedzi morfogenetycznej zanotowano na pożywkach z fruktozą.

Opracowany protokół bezpośredniej regeneracji może być użyteczny do szybkiego klonalnego rozmnażania jednolitego genetycznie materiału roślinnego, do badań fizjologicznych i biochemicznych czy też do genetycznej transformacji w celu ulepszenia cech *R. tianschanicus* x *R. patientia* jako rośliny energetycznej.

Według danych literaturowych *R. tianschanicus* x *R. patientia* znacznie przewyższa rodziców pod względem produkcji biomasy. Jednym z czynników leżących u podłoża tego zjawiska mogą być procesy fizjologiczne takie jak np. zwiększona intensywność fotosyntezy. Opracowana przez nas, opisana powyżej, metoda mikrorozmnażania mieszańca może być doskonałym układem modelowym do analiz fizjologicznych, co stanowiło punkt wyjścia do podjęcia badań dotyczących rozwoju aparatu fotosyntetycznego oraz zmian w ultrastrukturze chloroplastów mieszańca w warunkach *in vitro* oraz po aklimatyzacji do warunków *ex vitro*. Analiza aktywności fotosyntetycznej mieszańca w warunkach *in vitro* i *ex vitro*, oparta na fluorescencji chlorofilu *a* z fotoukładu II (ang. *photosystem II*, *PSII*) może być źródłem cennych informacji dotyczących szczególnych cech rozwoju aparatu fotosyntetycznego wyróżniających mieszańca, jako roślinę energetyczną.

Powszechnie wiadomo, że transfer roślin zregenerowanych *in vitro* do środowiska *ex vitro* wymaga adaptacji do nowych, stresujących dla rośliny warunków. W czasie aklimatyzacji, regeneranty ulegają fizjologicznym i morfologicznym zmianom, które umożliwiają im funkcjonowanie w nowym środowisku (Pospíšilová i wsp. 1999). U wielu gatunków niski procent aklimatyzacji regenerantów do warunków *ex vitro* jest efektem niskiej aktywności fotosyntetycznej wynikającej z pobytu w warunkach *in vitro* (Apóstolo i wsp. 2005,

Joshi i wsp. 2006). Specyficzne warunki środowiskowe panujące wewnątrz naczynia hodowlanego, takie jak wysoka wilgotność powietrza, niska wymiana gazowa, produkcja etylenu, czy też intensywność światła, może powodować anomalie fizjologiczne u

regenerantów. Należą do nich: obniżona wydajność fotosyntetyczna, utrata wody, trudności w ukorzenianiu czy też słaba funkcjonalność rozwiniętych korzeni (Pospíšilová i wsp. 2000, Kadleček i wsp. 2001).

Dodatkowo, obecność egzogenego cukru w kulturze *in vitro* może powodować zahamowanie ekspresji genów związanych z fotosyntezą oraz inhibicję aktywności enzymów cyklu CBB (ang. *Calvin-Benson-Bassham*), co prowadzi do obniżenia wydajności fotosyntetycznej (Matysiak i Gabryszewska 2016).

Biorąc pod uwagę powyższe informacje, rozpoczęto badania zaprezentowane w kolejnej publikacji stanowiącej podstawę osiągnięcia naukowego (Ślesak i wsp. 2017b) (**pkt 4.2 poz. 4**). Ich celem było uzyskanie odpowiedzi na następujące pytania: 1) który etap kultury *in vitro* jest kluczowy dla rozwoju wydajnego aparatu fotosyntetycznego – ukorzenianie zregenerowanych pędów przybyszowych w warunkach *in vitro* czy też może adaptacja regenerantów do warunków *ex vitro*? 2) czy rzeczywiście transfer z warunków *in vitro* do *ex vitro* stanowi punkt krytyczny w rozwoju aparatu fotosyntetycznego w procesie mikropropagacji *R. tianschanicus* x *R. patientia*? W celu uzyskania odpowiedzi na powyższe pytania wykonano analizę wybranych parametrów fluorescencji chlorofilu *a* z PSII skorelowaną z analizą ultrastruktury chloroplastów liści z dokładnie tych samych pędów przybyszowych mieszańca na wszystkich etapach mikrorozmnażania, tzn. na etapie formowania pędów przybyszowych *in vitro*, ukorzeniania pędów *in vitro* oraz po aklimatyzacji zregenerowanych pędów do warunków *ex vitro*. W zakresie prowadzonych badań została podjęta współpraca naukowa z Instytutem Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk w Krakowie oraz z Katedrą Cytologii i Embriologii Roślin Uniwersytetu Gdańskiego.

Pomiar fluorescencji chlorofilu *a* jest nieinwazyjną metodą, często stosowaną w biologii eksperymentalnej roślin, która umożliwia uzyskanie szczegółowych informacji na temat aktywności PSII. Analiza krzywych indukcji fluorescencji chlorofilu *a* umożliwia określenie warunków fizjologicznych, które wpływają na fotosyntetyczny transport elektronów w obrębie PSII (Murchie i Lawson 2013, Kalaji i wsp. 2017).

W czasie przeprowadzonych eksperymentów zanotowano najniższe wartości parametrów Y(II) (ang. *effective PSII quantum yield*) i ETR(II) (ang. *apparent electron transport rate of PSII*) dla liści pędów przybyszowych zregenerowanych *in vitro*, przed ich ukorzeniem. Wartości tych parametrów fluorescencji były znacznie wyższe i jednakowe dla liści pędów przybyszowych ukorzenionych i rosnących w warunkach *in vitro* i dla tych samych pędów, ale aklimatyzowanych i rosnących przez 5 tygodni w warunkach *ex vitro*. Analiza aktywności

PSII liści mieszańca pochodzących z pędów przybyszowych ukorzenionych i rosnących w warunkach *in vitro* i pędów przybyszowych w tym samym wieku co poprzednie, również rosnących w warunkach *in vitro*, ale nieukorzenionych, wykazała, że wartości parametrów Y(II), ETR(II), NPQ (ang. *nonphotochemical quenching*) and Y(NPQ) (ang. *quantum yield of regulated energy dissipation*) były znacznie wyższe dla pędów ukorzenionych.

Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują, że aktywność fotoukładu II w liściach mieszańca jest uzależniona od wykształcenia prawidłowo funkcjonujących korzeni, a to czy regenerant znajduje się w warunkach *in vitro* czy też *ex vitro* ma znaczenie drugorzędne.

Ważnym markerem strukturalnym do określenia stanu funkcjonalnego zregenerowanych roślin i określenia potencjału regeneracyjnego danego gatunku jest ultrastruktura chloroplastów. Wiele doniesień w literaturze wskazuje, że warunki *in vitro* mogą powodować zmianę kształtu chloroplastów, akumulację plastoglobul, skrobi czy też nieregularne ułożenie błon tylakoidów (Stefanova i wsp. 2015, Ladygin i wsp. 2008). Uważa się, że tego typu zmiany są przyczyną obniżenia wydajności fotosyntetycznej zregenerowanych roślin.

Wykonana przez nas analiza ultrastruktury chloroplastów obejmowała takie parametry jak: liczba tylakoidów w granach, ilość i wielkość ziaren skrobi, charakterystyka tylakoidów stromy (długość, gęstość), fuzja tylakoidów w granach, kształt chloroplastów. Powszechnie uważa się, że słaby rozwój aparatu fotosyntetycznego w kulturze *in vitro* czyni rośliny szczególnie wrażliwymi na niekorzystne warunki zewnętrzne w trakcie transferu z warunków *in vitro* do *ex vitro*. Wyniki przeprowadzonych u *R. tianschanicus* x *R. patientia* badań wykazały, że ultrastruktura i wielkość chloroplastów pędów przybyszowych ukorzenionych, rosnących w warunkach *in vitro* była identyczna jak tych po kilku tygodniach aklimatyzacji do warunków *ex vitro*. Chloroplasty te charakteryzowały się obecnością 3-4 ziaren skrobi. Tylakoidy stromy były krótkie, gęsto ułożone, a liczba tylakoidów w obrębie gran wahała się od 7-19 (Ślesak i wsp. 2017b).

Kluczowym spostrzeżeniem w czasie analizy był brak widocznych różnic w ultrastrukturze chloroplastów, podczas porównywania chloroplastów w liściach z tych samych ukorzenionych pędów przybyszowych, rosnących na pożywce hodowlanej w warunkach *in vitro* i chloroplastów w liściach pędów aklimatyzowanych do warunków *ex vitro* (rosnących w doniczkach, bez dodatku egzogenego cukru). Nie zaobserwowano oczekiwanej fotoinhibicji PSII w przypadku ukorzenionych pędów przybyszowych rosnących *in vitro* (wewnątrz naczynia). Podobnie, w przypadku regenerantów aklimatyzowanych *ex vitro*, pomimo niższej wilgotności powietrza w porównaniu z naczyniem hodowlanym i braku dodatkowego zewnętrznego źródła cukru, ultrastruktura chloroplastów nie uległa zmianie. W

oparciu o powyższe obserwacje, sformułowano wniosek, że chloroplasty liści pędów ukorzenionych, rosnących w warunkach in vitro, są wystarczająco dojrzałe i właściwie rozwinięte na tyle, że proces aklimatyzacji, czyli transferu do warunków ex vitro, nie ma wpływu na ich rozwój, co oznacza, że prawidłowe dojrzewanie chloroplastów jest związane głównie z formowaniem korzeni. W naszej opinii uzyskane wyniki stanowią dodatkowe potwierdzenie hipotezy, że to ukorzenie odgrywa kluczową rolę w rozwoju funkcjonalnego aparatu fotosyntetycznego. Przemawia za tym fakt, że chloroplasty badanych liści wykształciły prawidłowo funkcjonujący system błon tylakoidów już po ukorzenieniu, co znalazło odzwierciedlenie w aktywności fotoukładu II.

Podsumowując, uzyskane wyniki wyraźnie wskazują, że u *R. tianschanicus* x *R. patientia* ukorzenie eksplantatów w warunkach in vitro a nie ich aklimatyzacja do warunków ex vitro odgrywa kluczową rolę dla rozwoju w pełni wydajnego, dojrzałego aparatu fotosyntetycznego. Przedstawiona publikacja (Ślesak i wsp. 2017b) (**pkt 4.2 poz. 4**) stanowi pierwsze tego typu doniesienie, dotyczące analizy aktywności fotoukładu II i ultrastruktury chloroplastów na wszystkich etapach mikrorozmnażania, tzn. formowania pędów przybyszowych in vitro, ukorzeniania in vitro zregenerowanych pędów i aklimatyzacji regenerantów do warunków ex vitro.

Bibliografia

- Apóstolo N., Brutti C., Llorente B. 2005. Leaf anatomy of *Cynara scolymus* L. in successive micropropagation stages. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 41: 307–313
- Barrett S.C.H., Yakimowski S.B., Field D.L., Pickup M. 2010. Ecological genetics of sex ratios in plant populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365:2549–2557
- Bayliss M. W. 1980. Chromosomal variation in plant tissues in culture. *International Review of Cytology. Supplement* 11 A:113–144
- Bogunia H., Przywara L. 2000. Effect of carbohydrates on callus induction and regeneration ability in *Brassica napus* L. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 42:79–86
- Chaurasia B., Shukla R.P. 2016. Changes in reproductive phenology and sex ratio of *Trewia nudiflora* Linn. growing in sal forest of north-eastern Uttar Pradesh, India. *Tropical Ecology* 57:89–99
- Cheruvathur M.K., Thomas T.D. 2014. Shoot organogenesis from root derived callus of *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz. and assessment of clonal fidelity of micropropagated plants using RAPD analysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 172:1172–1182
- Eshraghi P., Zarghami R., Ofoghi H. 2005. Genetic stability of micropropagated plantlets in date palm. *J Sci Iran* 16:311–315

- Field D., Pickup M., Barrett S.C.H. 2013. Ecological context and metapopulation dynamics affect sex-ratio variation among dioecious plant populations. *Annals of Botany* 111: 917–923
- Field D.L., Pickup M., Barrett S.C.H. 2012. Comparative analyses of sex-ratio variation in dioecious flowering plants. *Evolution* 67:661–672
- Franklin G., Sheeba C.J., Lakshmi S.G. 2004. Regeneration of eggplant (*Solanum melongena* L.) from root explants. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 40:188–191
- Gescher K., Hensel A., Hafezi W., Derksena A., Kühnb J. 2011. Oligomeric proanthocyanidins from *Rumex acetosa* L. inhibit the attachment of herpes simplex virus type-1. *Antiviral Research* 89:9–18
- Grabowska-Joachimiak A., Kwolek D., Kula A., Marciniuk P. 2012. Fluorescent banding pattern and species-specific DNA marker in *Rumex thyrsiflorus* Fingerh. *Cytogenetic and Genome Research* 137:70–77
- Havlíčková K., Suchý J. 2010. Development model for energy crop plantations in the Czech Republic for the years 2008–2030. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14:1925–1936
- Heděnc P., Novotný D., Ust'ak S., Honzík R., Kovářová M., Šimáčková H., Frouz J. 2014. Allelopathic effect of new introduced biofuel crops on the soil biota: A comparative study. *European Journal of Soil Biology* 63:14–20
- Joshi P., Joshi N., Purohit S.D. 2006. Stomatal characteristics during micropropagation of *Wrightia tomentosa*. *Biologia Plantarum* 50:275–278
- Kadleček P., Tichá I., Haisel D., Čapková V., Schäfer Ch. 2001. Importance of *in vitro* pretreatment for ex vitro acclimatization and growth. *Plant Science* 161:695–701
- Kalaji H.M., Schansker G., Brestic M., Bussotti F., Calatayud A., Ferroni L., Goltsev V., Guidi L., Jajoo A., Li P., Losciale P., Mishra V.K., Misra A.N., Nebauer S.G., Pancaldi S., Penella C., Pollastrini M., Suresh K., Tambussi E., Yannicari M., Zivcak M., Cetner M.D., Samborska I.A., Stirbet A., Olsovska K., Kunderlikova K., Shelonzek H., Rusinowski Sz., Bąba W. 2017. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynthesis Research* 132:13–66
- Korpelainen H. 2002. A genetic method to resolve gender complements investigations on sex ratios in *Rumex acetosa*. *Molecular Ecology* 11:2151–2156
- Kumar N., Reddy M. P., 2012. Thidiazuron (TDZ) induced plant regeneration from cotyledonary petiole explants of elite genotypes of *Jatropha curcas*: A candidate biodiesel plant. *Industrial Crops and Products* 39:62–68
- Kwolek D., Joachimiak A.J. 2011. Seed sexing revealed female bias in two *Rumex* species. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 80:93–97
- Ladygin V.G., Bondarev N.I., Semenova G.A., Smolov A.A., Reshetnyak O.V., Nosov A.M. 2008. Chloroplast ultrastructure, photosynthetic apparatus activities and production of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana* in vivo and in vitro. *Biologia Plantarum* 52:9–16
- Lajter I., Zupkó I., Molnár J., Jakab G., Balogh L., Vasas A., Hohmann J. 2013. Antiproliferative activity of Polygonaceae species from the carpathian basin against human cancer cell lines. *Phytotherapy Research* 27:77–85
- Litvinenko Y., Muzychkina R.A. 2008. New antioxidant phytopreparation from *Rumex thyrsiflorus* roots. *Chemistry of Natural Compounds* 44:239–240

- Liu C.Z., Murch S.J., El-Demerdash M., Saxena P.K. 2003. Regeneration of the Egyptian medicinal plant *Artemisia judaica* L. *Plant Cell Reports* 21:525–53021
- Mariotti B., Manzano S., Kejnovsky E., Vyskot B., Jamilena M. 2009. Accumulation of Y-specific satellite DNAs during the evolution of *Rumex acetosa* sex chromosomes. *Molecular Genetics and Genomics* 281:249–259
- Matysiak B., Gabryszewska E. 2016. The effect of in vitro culture conditions on the pattern of maximum photochemical efficiency of photosystem II during acclimatisation of *Helleborus niger* plantlets to ex vitro conditions. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 125:585–593
- Mizia P., Kwolek D., Ilnicki T. 2014. DNA stability contrasts with chromosome variability in *Allium fistulosum* calli. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 56:66–72
- Mosiołek M., Pasierbek P., Malarz J., Moś M., Joachimiak A. 2005. *Rumex acetosa* Y chromosomes: constitutive or facultative heterochromatin? *Folia Histochemica et Cytobiologica* 43:161–167
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15:437–497
- Murch S.J., Saxena P.K. 2001. Molecular fate of thidiazuron and its effects on auxin transport in hypocotyls tissues of *Pelargonium hortorum* Bailey. *Plant Growth Regulation* 35:269–275
- Murchie E.H., Lawson T. 2013. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of Experimental Botany* 64:3683–3998
- Myšková R., Obršalová I., Langášek P. 2011. Economic, environmental and social aspects of renewable energy using for small sources of heating. *WSEAS Transactions on Environment and Development* 8:244–253
- Namasivayam P., Skepper J., Hanke D. 2006. Identification of a potential structural marker for embryogenic competency in the *Brassica napus* spp. oleifera embryogenic tissue. *Plant Cell Reports* 25:887–895
- Navajas-Peréz R., De La Herran R., Jamilena M., Lozano R., Ruiz Rejón M., Garrido-Ramos MA. 2005. Reduced rates of sequence evolution of Y-linked satellite DNA in *Rumex* (Polygonaceae). *Journal of Molecular Evolution* 60:391–399
- Navajas-Peréz R., Schwarzacher T., De La Herran R., Ruiz Rejón C., Ruiz Rejón M., Garrido-Ramos M.A. 2006. The origin and evolution of the variability in a Y-specific satellite-DNA of *Rumex acetosa* and its relatives. *Gene* 368:61–71
- Parker J.S., Clark M.S. 1991. Dosage sex-chromosome systems in plants. *Plant Science* 80:79–92
- Parveen S., Shahzad A. 2011. A micropropagation protocol for *Cassia angustifolia* Vahl. from root explants. *Acta Physiologiae Plantarum* 33:789–796
- Pickup M., Barrett S.C.H. 2013. The influence of demography and local mating environment on sex ratios in a wind-pollinated dioecious plant. *Ecology and Evolution* 3:629–639
- Pilarska M., Popielarska-Konieczna M., Ślesak H., Kozieradzka-Kiszkurno M., Góralski G., Konieczny R., Bohdanowicz J., Kuta E. 2014. Extracellular matrix surface network is associated with non-morphogenic calli of *Helianthus tuberosus* cv. Albik produced from various explants. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 83:67–73
- Popielarska-Konieczna M., Bohdanowicz J., Starnawska E. 2010. Extracellular matrix of plant callus tissue visualized by ESEM and SEM. *Protoplasma* 247:121–125
- Popielarska-Konieczna M., Kozieradzka-Kiszkurno M., Świerczyńska J., Góralski G., Ślesak H., Bohdanowicz J. 2008. Ultrastructure and histochemical analysis of extracellular

- matrix surface network in kiwifruit endosperm-derived callus culture. *Plant Cell Reports* 27:1137–1145
- Pospíšilová J., Haisel D., Synková H., Čatský J., Wilhelmová N., Plzáková S., Procházková D., Šrámek F. 2000. Photosynthetic pigments and gas exchange during *ex vitro* acclimation of tobacco plants as affected by CO₂ supply and abscisic acid. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 61:125–133
- Pospíšilová J., Tichá I., Kadleček P., Haisel D., Plzáková Š. 1999. Acclimatization of micropropagated plants to *ex-vitro* conditions. *Biologia Plantarum* 42:481–497
- Razaq M., Heikrujam M., Chetri S.K., Agrawal V. 2013. In vitro clonal propagation and genetic fidelity of the regenerants of *Spilanthes calva* DC. using RAPD and ISSR marker. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 19:251–260
- Rychlewski J., Zarzycki K. 1986. Genetical and ecological mechanisms regulating the sex ratio in populations of *Rumex thyrsoiflorus* Fingerh. (Polygonaceae). *Bulletin of the Geobotanical Institute ETH* 87:132–140
- Ślesak H., Dziedzic K., Kwolek D., Cygan M., Mizia P., Olejniczak P., Joachimiak A. J. 2017a. Female versus male – *Rumex thyrsoiflorus* Fingerh. under *in vitro* conditions. Does sex influence *in vitro* morphogenesis? *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 129:521–532
- Ślesak H., Góralski G., Kwolek D., Dziedzic K., Grabowska-Joachimiak A. 2015. Male adventitious roots of *Rumex thyrsoiflorus* Fingerh. as a source of genetically stable micropropagated plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 123:193–203
- Ślesak H., Liszniańska M., Popielarska-Konieczna M., Góralski G., Sliwinska E., Joachimiak A.J. 2014. Micropropagation protocol for the hybrid sorrel *Rumex tianschanicus* × *Rumex patientia*, an energy plant. Histological, SEM and flow cytometric analyses. *Industrial Crops and Products* 62:156–165
- Ślesak H., Liszniańska M., Ślesak I., Kozieradzka-Kiszkurno M., Popielarska-Konieczna M., Joachimiak A. J. 2017b. Rooting affects the photosystem II activity: *in vitro* and *ex vitro* studies on energy hybrid sorrel. *Acta Physiologiae Plantarum* 39:210
- Ślesak H., Przywara L. 2003. The effect of carbohydrate source on the development of *Brassica napus* L. immature embryos *in vitro*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 45:183–190
- Ślesak I., Hałdaś W., Ślesak H. 2006. Influence of exogenous carbohydrates on superoxide dismutase activity in *Trifolium repens* L. explants cultured *in vitro*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 48:93–98
- Stefanova M., Koleva D., Ganeva T. 2015. Variations in the chloroplast ultrastructure in *in vitro*-cultured *Hypericum* spp. plants. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 21:300–304
- Stehlik I., Barrett S.C.H. 2005. Mechanisms governing sex-ratio variation in dioecious *Rumex nivalis*. *Evolution* 59:814–825
- Stehlik I., Kron P., Barrett S.C.H., Husband B.C. 2007. Sexing pollen reveals female bias in a dioecious plant. *New Phytologist* 175:185–194
- Sudha CG, Seeni S. 2001. Establishment and analysis of fast-growing normal root culture of *Decalepis arayalpathra*, a rare endemic medicinal plant. *Current Science* 81:371–374
- Turker A.U., Mutlu E.C., Yildirim A.B. 2008. Efficient *in vitro* regeneration of fireweed, a medicinal plant. *Acta Physiologiae Plantarum* 30:421–426
- Ueno N., Suyama Y., Seiwa K. 2007. What makes the sex ratio female-biased in the dioecious tree *Salix sachalinensis*? *Journal of Ecology* 95:951–959
- Ust'ak S., Ust'aková M. 2004. Potential for agricultural biomass to produce bioenergy in the Czech Republic. In: Parris K (ed) *Biomass and agriculture: sustainability, markets and policies*. OECD, France, pp 229–239

- Zhuang P., Ye Z.H., Lan C.Y., Xie Z.W., Shu W.S. 2005. Chemically assisted phytoextraction of heavy metal contaminated soils using three plant species. *Plant and Soil* 276:153–162
- Żuk J. 1963. An investigation on polyploidy and sex-determination within the genus *Rumex*. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 32:5–72

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

Moje zainteresowania naukowe dotyczyły głównie zagadnień związanych z kulturami in vitro tkanek roślinnych oraz z embriologią eksperymentalną roślin. Od drugiego roku studiów na kierunku biologia (Wydział Biologii i Nauk o Ziemi UJ) jestem związana z Zakładem Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki. Tutaj wykonałam pracę magisterską pt. „Wpływ różnych cukrów na indukcję kalusa i organogenezę u *Brassica napus* L.”, pod kierunkiem prof. dr hab. Lesława Przywary. Praca magisterska oraz egzamin magisterski ocenione zostały na ocenę bardzo dobrą. Ponadto, bardzo dobre wyniki w nauce, pozwoliły mi na ukończenie studiów z wyróżnieniem. W 1996 roku ukończyłam również z wynikiem bardzo dobrym Studium Pedagogiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego. Wyniki eksperymentów przeprowadzonych w trakcie wykonywania pracy magisterskiej zostały przedstawione na 2. Ogólnopolskiej Konferencji „Zastosowanie kultur in vitro w fizjologii roślin” (Kraków, 1996) (**Zal. 3, pkt III B poz. 35**), a następnie opublikowane w *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* (Bogunia i Przywara, 2000) (**Zal. 3, pkt II A poz. 16**).

W 1997 roku podjęłam studia doktoranckie, pod opieką naukową prof. dr hab. L. Przywary w w/w Zakładzie. W trakcie studiów doktoranckich kontynuowałam badania dotyczące bardzo ciekawych i ważnych zagadnień związanych z wpływem cukrowców na szereg aspektów kultur in vitro rzepaku (*Brassica napus* L.). Węglowodany są nie tylko ważnym źródłem energii dla organizmów żywych, ale również kontrolują wiele ich funkcji życiowych. Działają jako fizjologiczne sygnały powodujące represję lub aktywację genów roślinnych uczestniczących w wielu zasadniczych procesach życiowych, takich jak: fotosynteza, oddychanie, synteza i rozkład skrobi i sacharozy, metabolizm azotu, obrona przed patogenami, czy regulacja cyklu komórkowego. Wybór obiektu badawczego podyktowany był istotnym znaczeniem rzepaku, który jest nie tylko ważną rośliną przemysłową, ale również gatunkiem modelowym, wykorzystywanym w badaniach m. in. procesu androgenyzy, somatycznej embriogenezy oraz morfogenezy in vitro. Badania prowadzone przeze mnie dotyczyły głównie wpływu egzogennych cukrów, takich jak glukoza, sacharoza, fruktoza oraz maltoza na rozwój zarodków rzepaku, indukcję kalusa, regenerację roślin drogą organogenezy oraz somatycznej embriogenezy. Wykonałam także w

tym okresie szereg analiz dotyczących aspektów fizjologicznych wpływu w/w cukrowców na kulturę rzepaku, takich jak: wpływ na aktywność fotosyntetyczną hodowanych tkanek, czy też analiza pobierania cukrów i zmiany ich zawartości w tkankach w trakcie kultury. W tym okresie opublikowałam pracę przeglądową w *Wiadomościach Botanicznych* (Bogunia i Przywara 1999), o roli cukrowców w roślinnych kulturach *in vitro* (**Zał. 3, pkt II D poz. 1.2**). Natomiast uzyskane wyniki badań były prezentowane na konferencjach krajowych i zagranicznych, m. in. *IX International Conference of Plant Embryologists* (Kraków, 1999), *XXIV Konferencji Embriologicznej* (Podlesice k/Kroczyce, 2000) i *52 Zjeździe Polskiego Towarzystwa Botanicznego* (Poznań, 2001) (**Zał. 3, pkt III B poz. 32-34**).

W trakcie studiów doktoranckich realizowałam grant promotorski KBN „Wpływ cukrów na rozwój zarodka, produkcję kalusa i regenerację *in vitro* u wybranych odmian rzepaku (*Brassica napus* L.)” (**Zał. 3, pkt II I poz. 1.1**). Rozliczony grant uzyskał najwyższą ocenę KBN. W roku 2002 obroniłam z wyróżnieniem pracę doktorską pt. „Wpływ cukrów na rozwój zarodka, produkcję kalusa i regenerację *in vitro* u wybranych odmian rzepaku (*Brassica napus* L.), wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. Lesława Przywary. Wyniki badań zawarte w rozprawie doktorskiej zostały opublikowane w *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* (Ślesak i Przywara, 2003) i *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (Ślesak i wsp. 2004) (**Zał. 3, pkt II A poz. 14-15**) oraz zaprezentowane na *X Ogólnopolskiej Konferencji Kultur In Vitro i Biotechnologii* (Bydgoszcz, 2003) i *XI International Conference of Plant Embryology* (Brno, 2003) (**Zał. 3, pkt III B poz. 30-31**).

Po obronie pracy doktorskiej byłam zatrudniona na stanowisku asystenta w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin UJ. W tym okresie prowadziłam eksperymenty dotyczące wpływu roślinnego regulatora wzrostu 2,4-D na procesy morfogenetyczne rzepaku (*Brassica napus* L., cv. Kana). Zagadnienia te mają bardzo duże znaczenie praktyczne w kulturach *in vitro* komórek, tkanek i organów roślinnych, ponieważ ta syntetyczna auksyna należy do często stosowanych w kulturach regulatorów wzrostu. Badania te realizowane były w ramach dwóch projektów (**Zał. 3, pkt II I poz. 2.1-2.2**), finansowanych przez Prorektora UJ ds. Badań i Współpracy Międzynarodowej, ze środków Centralnej Rezerwy Badań Własnych. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* (Ślesak i wsp. 2005) (**Zał. 3, pkt II A poz. 13**). W kolejnych latach uczestniczyłam w badaniach nad otrzymywaniem roślin z endospermy (bielma) kiwi (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward) w kulturze *in vitro*. Kiwi jest heksaploidem o niewielkich i bardzo licznych chromosomach ($2n = 6x = 174$). Bielmo u roślin okrytozalążkowych jest tkanką o stopniu ploidalności $3n$ a więc regeneracja roślin z bielma to jeden ze sposobów uzyskiwania roślin

triploidalnych, pożądaných z gospodarczego punktu widzenia (np. większe owoce). Badania z moim współdziałaniem prowadzono na wielu poziomach: tkankowym, komórkowym i ultrastrukturalnym oraz z wykorzystaniem różnorodnych technik, takich jak: SEM (ang. *Scanning Electron Microscopy*), analiza DNA przy użyciu cytometrii przepływowej, barwienie immunofluorescencyjne. Eksperymenty te zostały zwieńczone opracowaniem protokołu wydajnej regeneracji pędów przybyszowych z bielma kiwi (9x) oraz uzyskaniem długoterminowej hodowli kalusa pochodzącego z bielma, zachowującego zdolności morfogenetyczne. W zakresie w/w badań nawiązana została współpraca z Uniwersytetem Śląskim oraz Uniwersytetem Gdańskim. Eksperymenty dotyczące endospermy kiwi realizowane były m. in. w ramach projektu finansowanego z Centralnej Rezerwy Badań Własnych (**Zal. 3, pkt II I poz. 2.4**), a ich wyniki opublikowane zostały w *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* (Góralski i wsp. 2005, Popielarska i wsp. 2006) (**Zal. 3, pkt II A poz. 11-12**) oraz zaprezentowane na *XII International Conference of Plant Embryology* (Kraków, 2005) i na *XI Ogólnopolskiej Konferencji Kultur In Vitro i Biotechnologii Roślin* (Międzyzdroje, 2006) (**Zal. 3, pkt III B poz. 28-29**). Badania nad kalusem bielmowym kiwi były w kolejnych latach kontynuowane, ze szczególnym zwróceniem uwagi na budowę i funkcję pokrywającej powierzchnię kalusa macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM, ang. *Extracellular Matrix*). Uzyskane wyniki, nowatorskie ze względu na szczegółową analizę ultrastrukturalną ECM, która ujawniła jej heterogenną budowę oraz dużą zmienność w zależności od stanu aktywności komórek i zaawansowania procesu organogenezy, opublikowano w *Plant Cell Reports* (Popielarska-Konieczna i wsp. 2008) (**Zal. 3, pkt II A poz. 8**) oraz w *Plant Signaling & Behavior* (Popielarska-Konieczna i wsp. 2008) (**Zal. 3, pkt II D poz. 2.5**). Z kolei wyniki badań dotyczących charakterystyki fizjologicznej i biochemicznej kalusa morfogenennego i niemorfogenennego wyprowadzonego z izolowanego bielma kiwi *Actinidia deliciosa* cv. Hayward zaprezentowano na *Plant Biology Europe EPSO/FESPB Congress* (Praga, 2016) oraz na 57 Zjeździe Polskiego Towarzystwa Botanicznego (Lublin, 2016) (**Zal. 3, pkt III B poz. 3, 7**).

Równolegle uczestniczyłam w realizacji projektu finansowanego ze środków uczelni, który dotyczył kultury niedojrzałych zarodków fasoli wielokwiatowej (*Phaseolus coccineus*) oraz analizy chromosomów politenicznych w suspensorze (**Zal. 3, pkt II I poz. 2.5**). W tym czasie byłam również zaangażowana w badania dotyczące aktywności enzymów antyoksydacyjnych w kulturach in vitro *Trifolium repens* i *Mesembryanthemum crystallinum*, w odpowiedzi na czynniki stresowe. Eksperymenty dotyczące tych zagadnień prowadzone były we współpracy z Instytutem Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk w

Krakowie. Część realizowanych przeze mnie badań finansowana była przez Prorektora UJ ds. Badań i Współpracy Międzynarodowej Uniwersytetu Jagiellońskiego, ze środków Centralnej Rezerwy Badań Własnych (**Zal. 3, pkt II I poz. 2.3**). Wyniki przeprowadzonych eksperymentów opublikowane zostały w *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* (Ślesak i wsp. 2006) oraz w *Journal of Plant Physiology* (Ślesak i wsp. 2008) (**Zal. 3, pkt II A poz. 9, 10**) a także zaprezentowane na 4th *Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology* (Kraków, 2009) (**Zal. 3, pkt III B poz. 26**).

W latach 2005 i 2006 byłam współwykonawcą w międzyuczelnianym projekcie badawczym „Biomasa – odnawialne źródła energii” (AKCENT), dotyczącym indukcji kalusa i regeneracji *in vitro* roślin wysokoenergetycznych: *Helianthus tuberosus* oraz gatunków z rodzaju *Miscanthus* i *Salix*. Część badań realizowana była w ramach projektu „Kultury *in vitro* wybranych eksplantatów roślin bioenergetycznych”, finansowanego z rezerwy rektora UJ (**Zal. 3, pkt II I poz. 2.6**) a uzyskane wyniki były prezentowane na *XI Ogólnopolskiej Konferencji Kultur In Vitro i Biotechnologii Roślin* (Międzyzdroje, 2006) (**Zal. 3, pkt III B poz. 27**) oraz opublikowane w *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* (Pilarska i wsp. 2014) (**Zal. 3, pkt II A poz. 4**). Oprócz omówionych powyżej badań w obszarze moich zainteresowań znajdowały się wówczas również zagadnienia dotyczące mechanizmów odpowiedzialnych za reakcję roślin na zranienie (zarówno w obrębie organizmu roślinnego jak i w kontekście oddziaływania roślina – środowisko). Zagadnienia te mają istotne znaczenie poznawcze i mogą znaleźć zastosowanie praktyczne, zwłaszcza w szeroko pojętej ochronie roślin. Tematyki tej dotyczy popularnonaukowa praca przeglądowa (Ślesak i Ślesak, 2011) (**Zal. 3, pkt II D poz. 1.1**), w której przedstawiono charakterystykę reakcji roślin na uszkodzenie mechaniczne poprzez prezentację skomplikowanych i zaawansowanych mechanizmów obronnych jakimi dysponuje roślina (reakcje biochemiczne, substancje sygnałowe, kwas jasmonowy i jego pochodne, etylen, lotne związki organiczne jako chemoatraktanty dla naturalnych wrogów owadów roślinożernych, odpowiedź roślin na zranienie w kulturach *in vitro*).

Moje zainteresowania związane z rolą O₂ i H₂O₂ we wczesnych etapach ewolucji życia na Ziemi, zaowocowały współudziałem w dwóch artykułach opublikowanych w *Astrobiology* (Ślesak i wsp. 2012, Ślesak i wsp. 2016) (**Zal. 3, pkt II A poz. 2, 7**). Według powszechnie akceptowanej hipotezy, metabolizm tlenowy i wiele reakcji w które włączony jest O₂ pojawiło się po wyewoluowaniu fotosyntezy tlenowej (ang. *oxygenic photosynthesis*). Analiza porównawcza szlaków metabolicznych i reakcji chemicznych, w które włączony jest O₂ i H₂O₂, występujących u beztlenowców, fakultatywnych beztlenowców i tlenowców wykazała,

że prawdopodobnie hipotetyczny ostatni wspólny przodek wszystkich organizmów żywych (LUCA, ang. *last universal common ancestor*) mógł być zdolny do tolerancji chociażby niskich stężeń O₂ i detoksykacji reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *reactive oxygen species*). W oparciu o wyniki analiz przeprowadzonych *in silico*, nie można wykluczyć obecności niskich, ale na tyle wystarczających stężeń O₂ i H₂O₂ w środowisku, że mogły mieć istotny wpływ na wczesne etapy ewolucji życia na Ziemi.

Ponadto, w oparciu o analizę bioinformatycznych baz danych i filogenetykę molekularną, wykazaliśmy, że u 93% analizowanych obligatoryjnych anaerobów występuje co najmniej jeden enzym antyoksydacyjny, a 50% z nich posiada funkcjonalny enzymatyczny system antyoksydacyjny (EAS, ang. *enzymatic antioxidant system*). System taki składa się z co najmniej dwóch enzymów antyoksydacyjnych: jednego, który służy do detoksykacji anionorodnika ponadtlenkowego i drugiego, który rozkłada nadtlenek wodoru. Uzyskane wyniki stanowią dodatkowy argument za tym, że LUCA nie był obligatoryjnym anaerobem, a O₂ mógł być dostępny dla pierwszych mikroorganizmów zanim jeszcze wyewoluowała fotosynteza tlenowa. Tlen (O₂) mógł wówczas pochodzić ze źródeł abiotycznych, jak również mógł być efektem aktywności EAS.

Kontynuację powyższej tematyki i współpracy stanowi publikacja w BioEssays (Ślesak i wsp. 2017) (**Zał. 3, pkt II A poz. 1**), w której jestem współautorem. Dotyczy ona prezentacji nowej hipotezy, powstałej w oparciu o analizę literatury, związanej z aktywnością RubisCO jako oksygenazy. RubisCO (ang. *D-ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase*) jest kluczowym enzymem odpowiedzialnym za wiązanie CO₂ poprzez karboksylację RuBP (ang. *ribulose-1,5-bisphosphate*). Oprócz reakcji karboksylacji RubisCO katalizuje również reakcję oksygenacji RuBP, w której bierze udział O₂. Z dużym prawdopodobieństwem właściwości RubisCO związane z karboksylacją i oksygenacją rozwinęły się w tym samym czasie, już na wczesnych etapach ewolucji RubisCO. Podwójna „aktywność” RubisCO może być konsekwencją środowiska mikrotlenowego występującego lokalnie w środowisku wodnym, jeszcze przed pojawieniem się fotosyntezy tlenowej. W pracy zaprezentowane jest zastosowanie rekonstrukcji ancestralnych form RubisCO z użyciem techniki ASR (ang. *ancestral sequence reconstruction*), jako obiecującej metody testowania hipotezy dotyczącej oksygenicznego aktywności pierwotnych (ancestralnych) form RubisCO na wczesnych etapach ewolucji życia na Ziemi.

W 2013 opublikowałam w *Central European Journal of Biology* (Ślesak i wsp. 2013) (**Zał. 3, pkt II A poz. 6**) pracę dotyczącą wpływu genotypu na morfogenezę z tarczki (scutellum) niedojrzałych zarodków jęczmienia (*Hordeum vulgare*) w warunkach *in vitro*. Publikacja ta

jest efektem współpracy z Katedrą Hodowli Roślin i Nasiennictwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie i stanowi pierwsze doniesienie dotyczące analizy regeneracji *in vitro* z tarczek niedojrzałych zarodków, ważnych gospodarczo, odmian jęczmienia: Stratus, Ryton, Granal i Binal. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono wysoce zależną od genotypu wydajność regeneracji i żywotność tarczek zarodków jęczmienia. Wykonana przeze mnie analiza histologiczna wykazała wyłącznie pośrednią (*via kalus*) morfogenezę na drodze organogenezy (formowanie pędów przybyszowych) oraz somatycznej embriogenezy, co weryfikuje poprzednie doniesienia o bezpośredniej embriogenezie somatycznej w kulturach tarczek zarodków jęczmienia. Równocześnie uczestniczyłam w badaniach *in vitro* nad izolowanym bielmem wybranych zbóż, których wyniki opublikowano w *Protoplasma* (Popielarska-Konieczna i wsp. 2013) (**Zal. 3, pkt II A poz. 5**). W trakcie prowadzonych badań potwierdzono zależność efektywności odpowiedzi izolowanego bielma zbóż od genotypu, a wymieniona wyżej publikacja stanowi pierwsze doniesienie szczegółowo analizujące rozwój *in vitro* izolowanego bielma pszenicy chlebowej i pszenżyta. Wyniki badań dotyczących rozwoju izolowanej endospermy w warunkach *in vitro* były wielokrotnie prezentowane zarówno na konferencjach krajowych jak i zagranicznych, takich jak: *XXX Conference on Embryology Plants • Animals • Humans* (Jurata, 2012), *IX National Conference "In vitro cultures in plant physiology"* (Kraków, 2013), *3rd International Conference on Plant Morphology Modern Phytomorphology* (Lwów, 2014), *Plant Biology Europe FESPB/EPSO Congress* (Dublin, 2014) (**Zal. 3, pkt III B poz. 14, 15, 21, 24**) oraz opublikowane w *Modern Phytomorphology* (Popielarska-Konieczna i wsp. 2014) (**Zal. 3, pkt II D poz. 2.4**).

Od 2013 roku uczestniczę również w badaniach nad mikropropagacją z niedojrzałych zarodków apomiktycznego *Taraxacum belorussicum* val. N. Tikhom, wykonując analizy molekularne, mające na celu określenie stabilności genetycznej uzyskanych w warunkach *in vitro* regenerantów. Wyniki tych badań zostały dwukrotnie zaprezentowane na konferencjach *Puzzles of Development: from the First Divisions to Brain Wiring* (Zakopane, 2013), *3rd International Conference on Plant Morphology Modern Phytomorphology* (Lwów, 2014) (**Zal. 3, pkt III B poz. 13, 18**), oraz opublikowane w *Modern Phytomorphology* (Tuleja i wsp. 2014) (**Zal. 3, pkt II D poz. 2.3**).

Od kilku ostatnich lat moja działalność naukowo-badawcza dotyczy zagadnień związanych z procesami mikrorozmnażania i morfogenezy *in vitro* przedstawicieli rodzaju *Rumex*, obejmując aspekty histologiczne, fizjologiczne, cytometryczne oraz genetyczno-molekularne. Charakterystyka tego nurtu badań prowadzonego w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki UJ została przeze mnie opisana w publikacji popularnonaukowej w *Alma*

Mater (Ślesak 2013) (**Zał. 3, pkt II D poz.3.1**). Badania te były finansowane m. in. przez Prorektora UJ ds. Badań i Współpracy Międzynarodowej Uniwersytetu Jagiellońskiego ze środków Wydziałowej Rezerwy Badań Własnych (**Zał. 3, pkt II I poz. 2.7-2.9**). W badaniach tych można wyróżnić kilka nurtów. Jeden z nich dotyczy *Rumex thyrsoiflorus* Fingerh. Jak wspomniano wcześniej (**pkt 4.3**) jest to roślina dwupienna, wykazująca chromosomową determinację płci (osobniki żeńskie: $2n=12A+XX$, osobniki męskie: $2n=12A+XY_1Y_2$). Uważana jest za modelowy gatunek w badaniach nad strukturą i funkcją chromosomów płci oraz proporcją płci w populacjach a także gatunek ważny z medycznego punktu widzenia. Najistotniejsze rezultaty badań w tym zakresie zostały zawarte w pracach, które stanowią podstawę osiągnięcia naukowego, będącego przedmiotem niniejszego postępowania habilitacyjnego (**pkt 4.2, poz 2, 3**). Poza tym wyniki badań dotyczących tego gatunku były prezentowane na 12th National Conference "In vitro Cultures" (Poznań, 2009) (**Zał. 3, pkt III B poz.25**), XXX Conference on Embryology Plants • Animals • Humans (Jurata, 2012) (**Zał. 3, pkt III B poz.23**) i konferencji międzynarodowej *Puzzles of Development: from the First Divisions to Brain Wiring* (Zakopane, 2013) (**Zał. 3, pkt III B poz.17**). Z kolei wyniki badań dotyczących zależności pomiędzy potencjałem morfogenetycznym eksplantatów w warunkach in vitro a ich płcią, prowadzone z wykorzystaniem markerów molekularnych płci prezentowane były na IX National Conference "In vitro cultures in plant physiology" (Kraków, 2013) (**Zał. 3, pkt III B poz.19**), 3rd International Conference on Plant Morphology Modern Phytomorphology (Lwów, 2014) (**Zał. 3, pkt III B poz.11**), XIV Overall Polish in vitro Culture and Plant Biotechnology Conference (Poznań, 2015) (**Zał. 3, pkt III B poz.10**), Plant - the source of research material 4th International Conference and Workshop (Lublin, 2015) (**Zał. 3, pkt III B poz.9**), Joint 7th Conference of the Polish Society for Experimental Plant Biology and the Intercollegiate Faculty of Biotechnology UG & MUG (Gdańsk, 2015) (**Zał. 3, pkt III B poz.8**), 17th European Congress on Biotechnology (Kraków, 2016) (**Zał. 3, pkt III B poz.5**), 4th Meeting on Biotechnology of Plant Products, Green for Good IV-G4G (Olomouc, 2017) (**Zał. 3, pkt III B poz.2**) oraz opublikowane w *Modern Phytomorphology* (Ślesak i wsp. 2014) (**Zał. 3, pkt II D poz.2.2**).

Kolejnym obiektem prowadzonych przeze mnie przez ostatnich kilka lat badań jest *Rumex tianschanicus* x *Rumex patientia*. Najistotniejsze rezultaty badań w tym zakresie zostały zawarte w pracach, które stanowią podstawę osiągnięcia naukowego, będącego przedmiotem niniejszego postępowania habilitacyjnego (**pkt 4.2, poz 1, 4**). W obecnie prowadzone eksperymenty dotyczące biochemicznych i fizjologicznych aspektów kultury mieszańca *R. tianschanicus* x *R. patientia* i produkcji biomasy zaangażowana jest, pozostająca pod moją

opieką naukową, doktorantka mgr Magdalena Liszniańska. Wyniki badań dotyczących mieszańca energetycznego były prezentowane w trakcie następujących konferencji: *XXX Conference on Embryology Plants • Animals • Humans* (Jurata, 2012) (**Zał. 3, pkt III B poz.22**), *IX National Conference "In vitro cultures in plant physiology"* (Kraków, 2013) (**Zał. 3, pkt III B poz.20**), *Puzzles of Development: from the First Divisions to Brain Wiring* (Zakopane, 2013) (**Zał. 3, pkt III B poz.16**), *3rd International Conference on Plant Morphology Modern Phytomorphology* (Lwów, 2014) (**Zał. 3, pkt III B poz.12**), *XXXII Conference on Embryology Plants • Animals • Humans* (Wojsławice, 2016) (**Zał. 3, pkt III B poz.6**), *17th European Congress on Biotechnology* (Kraków, 2016) (**Zał. 3, pkt III B poz.4**), *6th Central European Congress of Life Sciences EUROBIOTECH* (Kraków, 2017) (**Zał. 3, pkt III B poz.1**) oraz opublikowane w *Modern Phytomorphology* (Ślesak i wsp. 2014) (**Zał. 3, pkt II D poz.2.1**). W zakresie wyżej wymienionych badań została podjęta współpraca naukowa z Katedrą Genetyki i Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy oraz z Instytutem Fizjologii Roślin PAN w Krakowie.

Ponadto, od 2015 roku prowadzę badania in vitro nad wybranymi przedstawicielami rodziny Orobanchaceae (zarazowate). Celem prowadzonych eksperymentów jest opracowanie modelowego układu in vitro dla 1) zbadania aspektów rozwojowych, metabolicznych i fizjologicznych tych roślin pasożytniczych, 2) zbadania interakcji pasożyt – żywicieli, 3) opracowania wydajnego systemu „infekcji” korzeni żywiciela kalusem *Orobanche* lub *Phelipanche*, dającego efekt w postaci pełnej regeneracji (dodatkowo analiza histologiczna hodowanego materiału) oraz 4) zbadanie molekularnych czynników kontrolujących kiełkowanie nasion i rozwój przed infekcją żywiciela (endogenne i egzogenne sygnały we wczesnych etapach rozwojowych). Zagadnienia te stanowią jeden z nurtów badań prowadzonych w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin we współpracy z Zakładem Botaniki Instytutu Biologii Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach. Jednym z efektów współpracy jest artykuł opublikowany w *Annales Botanici Fennici* (Piwowarczyk i wsp. 2015) (**Zał. 3, pkt II A poz. 3**), którego jestem współautorem.

Moja aktywność naukowa została wyróżniona Nagrodą Zespołową I stopnia J. M. Rektora UJ za szczególne osiągnięcia w pracy naukowej, przyznaną z okazji inauguracji roku akademickiego 2009/2010 (**Zał. 3, pkt II J poz. 1**). Podczas dwóch ostatnich edycji oceny nauczyciela akademickiego prowadzonych na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UJ (ankiety dwuletnie, lata 2012-2013 oraz 2014-2015) uzyskałam ocenę wyróżniającą dla wszystkich typów działalności (naukowa, dydaktyczna oraz organizacyjna). Szczególnie cenne dla mnie

było również otrzymanie nominacji w Laudacjach studenckich (2016) w kategorii „Przyjaciel studenta” (*Zał. 3, pkt III D poz. 1*).

W czerwcu 2015 roku odbyłam staż zagraniczny w Palacky University w Olomouc w ramach programu Erasmus + TEACHING STAFF MOBILITY. Podczas pobytu miałam możliwość zapoznania się z tematyką badawczą tamtejszej Katedry Botaniki oraz zdobyłam cenne doświadczenia dydaktyczne, prowadząc dla doktorantów w/w Katedry seminaria i zajęcia laboratoryjne “Useful histochemical technics for plant tissue material” (*Zał. 3, pkt III L poz. 1*).

W celu podnoszenia kwalifikacji zawodowych regularnie uczestniczę w różnorodnych szkoleniach, otrzymując odpowiednie certyfikaty. W 2012 roku brałam udział w wykładach oraz warsztatach praktycznych „*Preparatyka materiałów biologicznych do skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM)*”, zorganizowanych przez Leica Microsystems. W 2013 roku odbyłam szkolenie Elsevier’a (Author Seminar) “*How to write a world class paper*” oraz „*Ochrona prawna i ocena publikacji naukowych*”, a w 2014 roku szkolenie zatytułowane „*Bibliografia publikacji pracowników w Repozytorium UJ. Idea i funkcjonalność systemu*” (*Zał. 3, pkt III Q poz. 2.1-2.4*).

Przez ostatnie lata, jako ekspert w zakresie roślinnych kultur in vitro wykonywałam szereg recenzji manuskryptów dla specjalistycznych czasopism, takich jak: *PLOS ONE*, *In vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, *Journal of Developmental Biology and Tissue Engineering*, *Acta Physiologiae Plantarum*, *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, *Journal of Applied Botany and Food Quality*, *African Journal of Biotechnology*, *Proceedings of the National Academy of Sciences Section B: Biological Sciences* oraz *Semina Scientiarum* (*Zał. 3, pkt III P poz. 1-9*). Opiniowałam również projekty badawcze Koła Przyrodników Studentów Uniwersytetu Jagiellońskiego na zlecenie Rady Kół Naukowych Uniwersytetu Jagiellońskiego (*Zał. 3, pkt III O poz. 1,2*). Jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin (PTBER) oraz Federation of European Societies of Plant Biology (FESPB) (*Zał. 3, pkt III H poz. 1,2*).

Podsumowanie najważniejszych osiągnięć naukowych

Dane bibliometryczne: z dnia 5.10.2017

Suma punktów MNiSW: **525**

Sumaryczny IF (5 letni): **37.955**

Sumaryczny IF z roku opublikowania: **31.403**

źródło	cytacje	indeks Hirscha
Web of Science (All databases)	155*	8
Google Scholar	269	10

*125 bez autocytacji

Publikacje z listy A MNiSW (znajdujące się w bazie JCR): **20**

Publikacje z listy B MNiSW: **2** (przeglądowe)

Prace anglojęzyczne, recenzowane: **5**

Prace popularnonaukowe: **1**

Łącznie: **28**

Opublikowane doniesienia konferencyjne: **18**

Uczestnictwo w konferencjach

łącznie: **35**

międzynarodowe : **18**

krajowe: **17**

Projekty

Badawcze: **10**, w tym:

- finansowane przez KBN: **1**

- finansowane przez Prorektora UJ ds. Badań i Współpracy Międzynarodowej Uniwersytetu Jagiellońskiego ze środków Centralnej Rezerwy Badań Własnych lub Wydziałowej Rezerwy Badań Własnych: **9**

Edukacyjne: **4**

6. Działalność dydaktyczna

Od wielu lat realizowałam zajęcia dydaktyczne w pełnym wymiarze pensum w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki UJ, takie jak: Botanika (kierunek Biologia i geografia), Botanika ogólna (kierunek Biologia i geologia – specjalność ochrona przyrody), Kultury in vitro tkanek roślinnych (pracownia), Podstawy botaniki (kierunek Ochrona środowiska), seminaria magisterskie (studia niestacjonarne - kierunek Biologia), Pracownia specjalizacyjna, Seminaria dyplomowe oraz Proseminaria.

W ramach ostatniego z wymienionych kursów, opracowałam wspólnie z dr hab. Grzegorzem Góralskim, jako pomoc dydaktyczną, serię autorskich filmów instruktażowych dotyczących *Zotero* - menedżera cytacji, programu służącego do wygodnego magazynowania, zarządzania i cytowania źródeł bibliograficznych. Jest to narzędzie pomocne w tworzeniu i zarządzaniu bazą pozycji bibliograficznych w publikacjach naukowych, pracach licencjackich i magisterskich. Przygotowane przez nas tzw. *screencasty*, dostępne online, cieszą się dużym zainteresowaniem studentów.

Wśród obecnie prowadzonych przeze mnie zajęć dydaktycznych należy wymienić następujące kursy: Biologia roślin - podstawy (WBNZ-823), Fizjologia roślin (INS-35, WBNZ-479-A, WBNZ-945-IK), Diversity and evolution of plants (WBNZ-863, kurs anglojęzyczny), Mikrofotograficzna pracownia (WBNZ-190), Pracownia specjalizacyjna (WBNZ-665m, WBNZ-666m), Pracownia licencjacka (WB.IB.M-OP-028), Proseminarium (WB.IB.M-OP-025, WBNZ-895) oraz Seminarium dyplomowe (WBNZ-837). Aktywnie uczestniczyłam w przygotowaniu nowego dla Zakładu Cytologii i Embriologii Roślin UJ, bardzo wysoko ocenionego przez studentów w anonimowych ankietach, kursu „Fizjologia roślin”, który współprowadzę z innymi pracownikami Zakładu od roku akademickiego 2015/2016, najpierw dla kierunku Biologia i geografia, obecnie dla kierunku Biologia. W ramach przygotowania wyżej wymienionego kursu zajmowałam się opracowaniem autorskich instrukcji do ćwiczeń oraz wyposażeniem pracowni w odpowiednie odczynniki i aparaturę, umożliwiające przeprowadzenie zajęć dydaktycznych na wysokim poziomie.

Prowadzone przeze mnie zajęcia dydaktyczne są corocznie oceniane bardzo wysoko w ankietach studenckich (znacznie powyżej średniej UJ), w których studenci szczególnie podkreślają kompetencję, umiejętność nawiązywania kontaktu ze studentami, rzetelność i dobrą organizację zajęć. W bieżącym roku akademickim (semestr zimowy) uzyskałam ocenę 5.0 (średnia z 65 odpowiedzi uczestników zajęć). Załączone przez studentów komentarze (z których jeden pozwolę sobie przytoczyć poniżej), dowodzą wysokiej jakości prowadzonych przeze mnie zajęć i umiejętności dydaktycznych:

„Osobiście nie interesuję mnie botanika, także nie powiem, żebym podchodziła do zajęć ze szczególnym zaangażowaniem. Jednak pani Ślesak to moja ulubiona prowadząca od ćwiczeń w tym semestrze. Bardzo cierpliwa, miła i wyrozumiała, a jednocześnie bardzo dobrze wykładająca przedmiot i wymagająca. Wyśmienity kontakt ze studentami. Głupio aż było się nie uczyć, nawet jak ktoś nie lubi roślin.” [pisownia oryginalna]

W latach 2009-2016 pod moją opieką wykonanych zostało sześć prac magisterskich (**Zał. 3, pkt III J poz. 1.1-1.6**) oraz trzy prace licencjackie (**Zał. 3, pkt III J poz. 2.1-2.3**). Obecnie jestem promotorem jednej pracy magisterskiej i jednej licencjackiej (**Zał. 3, pkt III J poz. 1.7, 2.4**). Dodatkowo w latach 2011-2016 byłam recenzentem dwóch prac magisterskich oraz pięciu prac licencjackich (**Zał. 3, pkt III Q poz. 4.1-4.7**).

Jestem również promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim mgr Katarzyny Dziedzic (otwarcie przewodu: maj 2017) oraz opiekunem naukowym doktorantki mgr Magdaleny Liszniańskiej (**Zał. 3, pkt III K, poz. 1, 2**).

7. Popularyzacja nauki

Prowadzę bardzo aktywną działalność popularyzatorską. W ostatnich latach uczestniczyłam jako wykonawca w czterech projektach edukacyjnych, obejmujących programy europejskie i krajowe (*Zał. 3, pkt III A poz. 1-4*), prowadząc zajęcia jako nauczyciel - instruktor nauczania zdalnego (platforma edukacyjna) i stacjonarnego w ramach „Młodzieżowej e-akademii nauk matematyczno – przyrodniczych”, wykłady dla „Stowarzyszenia Uniwersytet Trzeciego Wieku” w Andrychowie w ramach Rządowego Programu na Rzecz Aktywności Społecznej Osób Starszych oraz warsztaty laboratoryjne stacjonarne i transmitowane do szkół licealnych w ramach projektu *"Małopolska Chmura Edukacyjna"*. Dodatkowo, prowadząc prelekcje, byłam zaangażowana w działalność Sekcji Biologicznej Krakowskiego Młodzieżowego Towarzystwa Przyjaciół Nauk i Sztuki, oraz w promocję Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UJ w ramach dnia otwartych.

Swoje umiejętności dydaktyczne wykorzystuję koordynując i współprowadząc z pełnym zaangażowaniem warsztaty laboratoryjne zarówno dla przedszkolaków, uczniów szkół podstawowych jak i gimnazjalistów. Od roku akademickiego 2014/2015 uczestniczę jako koordynator oraz prowadzący, w nowatorskim na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UJ programie dla licealistów „Rozwiń skrzydła – nieograniczone możliwości”, natomiast od roku akademickiego 2013/2014 prowadzę zajęcia (wykłady oraz ćwiczenia) dla uczniów IV Liceum Ogólnokształcącego im. Tadeusza Kościuszki w Krakowie w ramach patronatu Uniwersytetu Jagiellońskiego nad klasą biologiczno – chemiczną (na zlecenie Wydziałowego Centrum Dydaktyki) (*Zał. 3, pkt III I poz. 1-11*).

8. Działalność organizacyjna

Od wielu lat bardzo chętnie angażuję się w działalność organizacyjną Zakładu Cytologii i Embriologii Roślin UJ. W roku 1997 pełniłam funkcję Skarbnika *XXII Konferencji Embriologicznej* a w 1999 roku byłam członkiem Komitetu Organizacyjnego *IX International Conference of Plant Embryologists* (*Zał. 3, pkt III C poz. 1, 2*). Wielokrotnie reprezentowałam Wydział Biologii i Nauk o Ziemi UJ na Targach Edukacyjnych oraz kierunek Biologia na Jagiellońskim Festiwalu Nauki, a także byłam oddelegowana przez Instytut Botaniki UJ, na wniosek Okręgowej Komisji Egzaminacyjnej, do XV LO w Krakowie jako obserwator egzaminu maturalnego z biologii. W latach 2004-2006 byłam członkiem Komisji Rekrutacyjnej na kierunek Biologia, a w 2008 roku pełniłam funkcję sekretarza Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej (Biologia, studia stacjonarne I stopnia). Od 2004 roku jestem doradcą programowym dla studentów I i II roku studiów licencjackich na

kierunku Biologia, a od 2005 jestem przedstawicielem niesamodzielných pracowników naukowo-dydaktycznych na Radę Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UJ. Od 2010 roku regularnie pełnię funkcję przewodniczącego Komisji na egzaminach dyplomowych, zarówno licencjackich jak i magisterskich, w Instytucie Botaniki UJ. W 2011 roku powierzono mi funkcję koordynatora w Małopolskim Regionalnym Programie Operacyjnym MRPO.01.01.01-12-087/09: "Modernizacja infrastruktury dydaktycznej na kierunkach ścisłych i przyrodniczych UJ w ramach I stopnia kształcenia". Zadanie 10. Modernizacja Pracowni Genetyczno Molekularnej Instytutu Botaniki UJ. Natomiast w 2012 roku byłam członkiem komisji przetargowych w projekcie Program Operacyjny Infrastruktura i Środowisko POIS (13.00.01-00-062/08 „Rozbudowa i modernizacja infrastruktury dydaktycznej na kierunkach przyrodniczych i ścisłych UJ”). Rok później koordynowałam zakupy sprzętu laboratoryjnego w związku z przeprowadzką Zakładu Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki UJ i doposażeniem Pracowni Genetyczno-Molekularnej IB UJ. Dodatkowo, w 2014 roku organizowałam „Noc Biologów” w Instytucie Botaniki UJ. Od 2012 roku jestem członkiem Komisji Programu „Erasmus +” w Instytucie Botaniki (wymiana studencka). Od 2013 roku wchodzę również w skład Rady Programowej kierunku Biologia, w ramach której w 2016 roku powołano mnie na członka Zespołu ds. oceny efektów kształcenia (*Zał. 3, pkt III Q poz. 1.1-1.15*).

Informacje o pozostałych osiągnięciach naukowych, dydaktycznych i organizacyjnych, nie uwzględnionych powyżej, przedstawiono w „Wykazie opublikowanych prac naukowych oraz informacji o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki” (*Zał. 3*).

Halina Ślesak