

Rada Dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w
Warszawie
ul. Nowoursynowska 159,
02-787 Warszawa

Rada Doskonałości Naukowej 00-901 Warszawa, pl. Defilad 1 Dział Kancelaryjny WPLYNĘŁO (RPW)	
14. 10. 2020	
Znak sprawy:	
Podpis	Zak.

za pośrednictwem:
Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok.
2401)

dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska
Katedra Botaniki
Instytut Biologii
SGGW w Warszawie

Wniosek

z dnia 26.09.2020

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk rolniczych.....
w dyscyplinie ...rolnictwo i ogrodnictwo.....

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

1 cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych pt: „Rearanżacja apoplastu w symbiozach korzeniowych wybranych gatunków roślin bobowatych w odpowiedzi na stres glinowy”

Zostałem poinformowany, że:

Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).

Kontakt za pośrednictwem e-mail: kancelaria@rdn.gov.pl, tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu. Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c)

Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art. 232 - 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenia postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.

Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodz.html

Marzena Sujkowska-Rybkowska
(podpis wnioskodawcy)

Załączniki:

- Załącznik 1. Dane Wnioskodawcy
- Załącznik 2. Kopia dokumentu potwierdzającego posiadanie stopnia doktora.
- Załącznik 3. Autoreferat
- Załącznik 4. Wykaz prac wchodzących w skład osiągnięcia wraz z oświadczeniami współautorów
- Załącznik 5. Wykaz osiągnięć naukowych
- Załącznik 6. Kopie dokumentów potwierdzających wybrane aktywności
- Załącznik 7. Kopie pozostałych publikacji nie wchodzących w skład osiągnięcia

Przewodniczący
2020-10-28
Przewodniczący
Prof. dr hab. Tomasz Okruszko

AUTOREFERAT

Dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska

Katedra Botaniki

Instytut Biologii

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Warszawa, 2020

SPIS TREŚCI

1. Dane osobowe	3
2. Przebieg kariery naukowej	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych i innych.....	4
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy.....	4
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	4
4.2. Wykaz cyklu publikacji monotematycznych stanowiących osiągnięcie.....	4
4.3. Podsumowanie danych bibliometrycznych	6
4.4. Syntetyczne omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników	6
5. Wykaz cytowanej literatury.....	20
6. Omówienie pozostałej tematyki badawczej.....	22
6.1. Wykaz pozostałych publikacji wraz z danymi bibliometrycznymi.....	22
6.2. Obszary zainteresowań naukowych przed uzyskaniem stopnia doktora.....	24
6.3. Obszary zainteresowań naukowych po uzyskaniu stopnia doktora.....	25
7. Dalsze perspektywy badawcze.....	31
8. Podsumowanie liczbowe dorobku naukowo-badawczego.....	31
9. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę	32

1. DANE OSOBOWE

Imię i nazwisko:

Dr inż. Marzena Sujkowska-Rybikowska

Miejsce zatrudnienia:

Katedra Botaniki

Instytut Biologii

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,

ul. Nowoursynowska 159, 02-787 Warszawa

email:

marzena_sujkowska@sggw.edu.pl

Nr ORCID

0000-0002-5234-2008

2. PRZEBIEG KARIERY NAUKOWEJ

Studia wyższe:

2001 r. - Tytuł magistra inżyniera rolnictwa, specjalność ochrona środowiska rolniczego Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Rolniczy; Praca magisterska pt. „Wpływ zasolenia podłoża chlorkiem sodu na strukturę brodawek korzeniowych grochu” (dyplom z wyróżnieniem; praca uznana za najlepszą pracę magisterską w roku akademickim 2000/2001r); promotor – dr Wojciech Borucki

Doktorat:

2006 r. - Stopień doktora nauk rolniczych

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Rolnictwa i Biologii; Rozprawa doktorska pt. „Charakterystyka apoplastu efektywnych i nieefektywnych brodawek korzeniowych grochu” (dyplom z wyróżnieniem); promotor – prof. dr hab. Władysław Golinowski

Inne formy edukacji:

2000-2001 r. - Roczne Równoległe Studium Pedagogiczne realizowane na Wydziale Ekonomiczno-Rolniczym Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

01.10.2001-05.08.2002r - Technik organizacji reklamy Niepubliczne Studium Zawodowe, Szkoła Zarządzania Biznesem w Warszawie

Udział w szkoleniach i warsztatach naukowych:

- Warsztaty „Signals involved in plant-microbe interactions”. Instytut Biochemii i Biofizyki, Goniądz, 8-12.05.2002r.
- Szkolenie „System zarządzania w laboratorium i jego akredytacja”. Centrum Analityczne SGGW, Warszawa 30.06.2006r.
- „Organizmy genetycznie modyfikowane”, Instytut Biologii i Biofizyki, Warszawa, 14.11.2007r.
- „Micromycetes w ochronie środowiska”, Uniwersytet Łódzki, Łódź, 26.09.2014r.
- „Optimization techniques of western blotting”, Symbios Life Sciences, Warszawa, 02.06.2014.
- „Optimization techniques of western blotting, IHC, ICC, and flow cytometry”, Abcam, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego, Warszawa, 25.03.2014r.

- Warsztaty „Isolation and identification of plant-associated bacteria”, FP7-REGPOT Warsaw Plant Health Initiative, SGGW, Warszawa, 30.05.2014r.
- Warsztaty „Grzyby - organizmy kluczowe dla życia na Ziemi”, Polskie Towarzystwo Mykologiczne, Spała, 23-26.09.2014r.
- “Low light imaging microscopy systems active illumination 3D/4D data visualization and analysis”, Andor Academy, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego, Warszawa, 13.05.2015r.
- Warsztaty z mikroskopii wysokiej rozdzielczości, Instytut Biologii i Biofizyki, Warszawa, 22-23.04.2015r.
- Warsztaty “Sustainable remediation and rehabilitation of contaminated sites”, The Central and Eastern European Conference on Health and the Environment (CEECH), Uniwersytet Rolniczy, Kraków, 10.06.2018r.
- “Współczesne techniki mikroskopowe w obrazowaniu materii biologicznej”. Ogród Botaniczny Polskiej Akademii Nauk, Powsin, 15.03.2019r.

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

01.10.2006 - 30.09.2013 - asystent - Katedra Botaniki, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

01.10.2013 - aktualnie - adiunkt - Katedra Botaniki, Wydział Rolnictwa i Biologii (od 2019 roku Instytut Biologii), Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

26.04.2010 - 01.06.2011 - urlop wychowawczy

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

Osiągnięciem naukowym, w rozumieniu art. 219 ust. 1. pkt 2b Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r., jest monotematyczny cykl 7 artykułów naukowych.

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

„Rearanżacja apoplastu w symbiozach korzeniowych wybranych gatunków roślin bobowatych w odpowiedzi na stres glinowy”

4.2. Wykaz cyklu publikacji monotematycznych stanowiących osiągnięcie będące podstawą ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego wraz z określeniem wkładu własnego wnioskodawcy w powstanie tych prac oraz danymi bibliometrycznymi

P1.	Sujkowska-Rybkowska M, Borucki W, Znojek E, 2012. Structural changes in <i>Medicago truncatula</i> root nodules caused by short-term aluminum stress. <i>Symbiosis</i> . 58:161-170 Udział- 90%		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₂ *	IF ₂₀₁₂ *	Liczba cytowań**
	20	1.214	8
P2.	Sujkowska-Rybkowska M, 2012. Reactive oxygen species production and antioxidative defense in pea (<i>Pisum sativum</i> L.) root nodules after short-term aluminum treatment. <i>Acta Physiologia Plantarum</i> . 34:1387-1400 Udział- 100%		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₂	IF ₂₀₁₂	Liczba cytowań
	25	1.639	6
P3.	Sujkowska-Rybkowska M, Borucki W, 2014. Localization of hydrogen peroxide accumulation and diamine oxidase activity in pea root nodules under aluminum stress. <i>Micron</i> . 57:13-22 Udział- 90%		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₄	IF ₂₀₁₄	Liczba cytowań
	30	2.062	6
P4.	Sujkowska-Rybkowska M, Borucki W, 2014. Accumulation and localization of extensin protein in apoplast of pea root nodule under aluminum stress. <i>Micron</i> . 67:10-19 Udział- 90%		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₄	IF ₂₀₁₄	Liczba cytowań
	30	2.062	7
P5.	Sujkowska-Rybkowska M, Borucki W, 2015. Pectins esterification in the apoplast of aluminum-treated pea root nodules. <i>Journal of Plant Physiology</i> . 184:1-7. Udział- 90%		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₅	IF ₂₀₁₅	Liczba cytowań
	35	2.557	8
P6.	Sujkowska-Rybkowska M, Czarnocka W, Sańko-Sawczenko I, Witoń D, 2018. Effect of short-term aluminum stress and mycorrhizal inoculation on nitric oxide metabolism in <i>Medicago truncatula</i> roots. <i>Journal of Plant Physiology</i> . 220:145-154 Udział- 70%		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₈	IF ₂₀₁₈	Liczba cytowań
	35	3.241	3
P7.	Sujkowska-Rybkowska M, Znojek E, 2018. Localization of calreticulin and calcium ions in mycorrhizal roots of <i>Medicago truncatula</i> in response to aluminum stress. <i>Journal of Plant Physiology</i> . 229:22-31 Udział- 95%		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₈	IF ₂₀₁₈	Liczba cytowań
	35	3.241	0

* Uwzględniono punktację czasopism i IF z roku publikacji artykułów wchodzących w skład osiągnięcia zgodnie z komunikatami Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) na dany rok.

** Liczba cytowań (z autocytowaniami) wg Web of Science Core Collection, na dzień 14.09.2020r.

Część z tych prac (P3-P5) zostało nagrodzonych nagrodą III stopnia Rektora SGGW (Warszawa, 01.10.2016). Wszystkie prace składające się na osiągnięcie naukowe zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym ujętych w bazie Web of Science Core Collection. We wszystkich publikacjach, wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, jestem pierwszym autorem i jednocześnie autorem korespondującym, a mój wkład w ich powstanie wynosił od 70, do 100%. Mój udział w powstanie tych prac polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń i opracowaniu metodyki większości analiz, zdobyciu finansowania na realizację badań, przeprowadzeniu prac doświadczalnych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptów publikacji, prowadzeniu korespondencji z redaktorami czasopism (autor korespondujący) i dokonaniu korekt manuskryptów przed ich finalną akceptacją. Oświadczenia współautorów wraz z określeniem ich wkładu w powstanie wyżej wymienionych publikacji zamieszczono w **Załączniku 4** do poniższego wniosku habilitacyjnego. W dalszej części autoreferatu prace wchodzące w skład przedstawionego do oceny cyklu są przywoływane jako P1-P7.

4.3. Podsumowanie danych bibliometrycznych cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie wynikające z art. 219 ustawy 1 pkt. 2 z dnia 20 lipca 2018 r o stopniach naukowych

Sumaryczny <i>Impact Factor</i> (IF)*	16,016
Liczba punktów zgodnie z wykazami czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego**	210
Liczba cytowań wg bazy Web of Science ***	38

* *Impact Factor* (IF) zgodny z rokiem publikacji

** Uwzględniono punktację czasopism z roku publikacji artykułów wchodzących w skład osiągnięcia zgodnie z komunikatami Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) na dany rok.

*** Liczba cytowań (z autocytowaniami) wg bazy Web of Science Core Collection, na dzień 28.07.2020.

4.4. Syntetyczne omówienie celu naukowego wskazanego osiągnięcia, uzyskanych wyników oraz ich ewentualnego wykorzystania

Wstęp i cel pracy

Główny obszar prowadzonych przeze mnie badań, które zaowocowały powstaniem publikacji naukowych wskazanych w ramach *Osiągnięcia*, koncentruje się wokół zagadnień dotyczących przebudowy apoplastu organów symbiotycznych (brodawek korzeniowych i korzeni znikoryzowanych) wybranych gatunków roślin bobowatych, jako mechanizmu obronnego przeciwdziałającego toksycznemu działaniu glinu.

Wśród pierwiastków niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania roślin główne miejsce zajmuje azot i fosfor. Azot (N) jest składnikiem wielu biocząsteczek, takich jak białka, kwasy nukleinowe, barwniki fotosyntetyczne i witaminy. Wpływa również na pobieranie i wykorzystywanie innych pierwiastków takich jak fosfor i potas. Jego niedobór

może skutkować zahamowaniem wzrostu roślin, upośledzeniem rozwoju systemu korzeniowego, a także podatnością na choroby. Najbogatszym źródłem azotu jest atmosfera, jednak forma cząsteczkowa N_2 jest niedostępna dla roślin. Nieliczne mikroorganizmy są zdolne do przekształcania N_2 w amoniak wykorzystywany przez rośliny, a zjawisko to znane jest jako biologiczne wiązanie azotu. Fosfor z kolei jest składnikiem kwasów nukleinowych, koenzymów oraz fosfolipidów. Bierze udział w tworzeniu korzeni bocznych oraz wpływa na podatność roślin na choroby. W glebie występuje zwykle w postaci nierozpuszczalnej, niedostępnej dla roślin. Niektóre mikroorganizmy są jednak zdolne do rozpuszczania fosforanów i udostępniania ich roślinom [1-3].

Bobowate (*Fabaceae*) to rodzina roślin o dużym znaczeniu rolniczym, ze względu na ich unikalną zdolność tworzenia interakcji symbiotycznych zarówno z wiążącymi azot cząsteczkowy (N_2) bakteriami *Rhizobium* (zwanych dalej ryzobiami lub bakteriami brodawkowymi) jak i arbuskularnymi grzybami mikoryzowymi (ang. „arbuscular mycorrhizal fungi”, AMF) pozyskującymi fosfor [1]. Całkowite globalne wiązanie N_2 w procesie biologicznego wiązania azotu zostało oszacowane na 100–290 Tg N/rok ($1\text{Tg} = 10^{12}\text{ g}$), w tym około 50–70 Tg N/rok stanowi azot wiązany w uprawach rolniczych [1,2]. W odpowiednich układach symbiotycznych wydajność wiązania N_2 przez ryzobia osiąga nawet $> 500\text{ kg N}_2\text{ ha}^{-1}\text{ rok}^{-1}$. Rośliny bobowate stanowią cenne źródło białka zarówno dla ludzi jak i zwierząt. Światowy areal roślin bobowatych uprawianych na cele konsumpcyjne i paszowe wynosi około 150-180 mln ha [1]. Blisko połowa tego arealu przeznaczana jest pod uprawę soi i około 20% pod uprawę innych roślin strączkowych, takich jak groch, fasola, soczewica, czy bobik [1]. Uprawa roślin bobowatych oddziałuje korzystnie na strukturę i żyzność gleb, zwłaszcza w integrowanych i ekologicznych systemach produkcji rolniczej [1]. Resztki poźniwe tych roślin dostarczają azotu dla innych roślin uprawianych w zmianowaniu, co znacznie ogranicza zużycie nawozów azotowych i zmniejsza zanieczyszczenie środowiska. Korzystny wpływ na wzrost i produktywność roślin ma również mikoryza [3]. Drobnie strzępki grzybów mikoryzowych zwiększają znacznie powierzchnię chłonną korzeni umożliwiając roślinom lepszy dostęp do wody oraz składników pokarmowych, szczególnie fosforu nieorganicznego (P_i), zwiększając czterokrotnego wchłaniania tego pierwiastka przez rośliny [3]. Coraz więcej uwagi poświęca się również ochronnej roli ryzobiów i mikoryzy przed negatywnym wpływem czynników zewnętrznych, zarówno biotycznych jak i abiotycznych, w tym zanieczyszczenia gleb metalami toksycznymi. Grzyby mikoryzowe kumulują często znaczącą ilość metali w swoich strzępkach, dzięki czemu zmniejsza się ilość toksycznych metali, która może się przedostać do tkanek roślinnych [3,53]. Nieliczne badania wskazują również na korzystny wpływ mikoryzy na symbiozę z ryzobiami i efektywność biologicznego wiązania azotu [3,54].

Badania naukowe nad symbiozą z bakteriami brodawkowymi sięgają lat 80 XIX wieku. Ryzobia stanowią grupę bakterii Gram-ujemnych, zdolnych do indukowania procesu tworzenia brodawek na korzeniach roślin bobowatych, w których ryzobia wiążą i redukują N_2 do amoniaku [1,3]. Znakiem szczególnym tej symbiozy jest wysoka specyficzność wobec rośliny-gospodarza. Poszczególne gatunki ryzobiów tworzą brodawki na określonej liczbie gatunków roślin. Brodawka korzeniowa jest organem o unikalnej strukturze anatomicznej i cytologicznej, który ma zapewnić środowisko mikroaerofilowe niezbędne do prawidłowego działania nitrogenazy - kluczowego enzymu bakteryjnego umożliwiającego wiązanie N_2 . Program morfogenezy brodawki jest zakodowany w genomie rośliny-gospodarza. Skoordynowane procesy wymiany związków sygnałowych pomiędzy ryzobiami a rośliną inicjują powstawanie tzw. nici infekcyjnych i zawiązków (primordiów) brodawek. Nici infekcyjna jest rosnącym szczytowo (podobnie jak włosniki korzeniowe) tubularnym wrostem ściany komórkowej gospodarza, którego zadaniem jest doprowadzenie bakterii do primordium brodawki i uwolnienie ich do cytoplazmy komórki roślinnej. Nici infekcyjna

(poza jej częścią wierzchołkową) otoczona jest błoną komórkową i ścianą komórkową, a jej wnętrze wypełnia fibrylarna macierz, w której zatopione są komórki bakterii. Uwalniane w wierzchołkowej części nici infekcyjnej ryzobia są odseparowane od cytoplazmy komórki gospodarza błoną peribakteroidalną i stopniowo przekształcają się w bakteroidy, tj. w formę bakterii zdolną do egzystowania wewnątrz protoplastu gospodarza i prowadzenia reakcji redukcji N_2 do amoniaku. Wiążące azot bakteroidy, wraz z otaczającą je błoną peribakteroidalną, uznaje się za nowe organelle komórkowe - symbiosomy. Komórki posiadające symbiosomy (tzw. komórki zainfekowane) znacznie się powiększają, czemu towarzyszy także rozrost ściany komórkowej. Brodawki korzeniowe niezdeterminowane (takie jak u grochu czy lucerny) zbudowane są z merystemu, tkanki bakteroidalnej i mięsistowej kory brodawki [3]. Ta ostatnia warstwa, na którą składają się trzy obszary - kora zewnętrzna, endoderma i kora wewnętrzna (parenchyma), stanowi barierę dyfuzyjną zarówno dla gazów, jak i toksycznych jonów [3]. Ostatnim etapem rozwoju brodawki korzeniowej jest jej starzenie i degradacja symbiosomów.

Początki badań nad symbiozą z bakteriami brodawkowymi zbiegło się w czasie z pierwszym opisem mikoryzy przez polskiego botanika Franciszka Kamińskiego. W wyniku symbiozy z arbuskularnymi grzybami mikoryzowymi (AMF) korzenie roślin przekształcają się w korzeniowe organy symbiotyczne, zwane mikoryzą arbuskularną. Mikoryza arbuskularna zachodzi pomiędzy strzępkami grzybów z gromady *Glomeromycota*, a korzeniami większości roślin lądowych [4,45]. Najważniejszymi, i najbardziej charakterystycznymi, strukturami mikoryzy arbuskularnej są drzewkowato rozgałęzione strzępki grzybów zwane arbuskulami, które tworzą się w zainfekowanych komórkach kory pierwotnej korzenia i pośredniczą w dwustronnej wymianie substancji odżywczych pomiędzy symbiontami [4]. W procesie formowania się arbuskul w komórkach kory pierwotnej korzenia ściany komórkowe gospodarza ulegają znacznej przebudowie. Każde zakończenie arbuskuli odseparowane jest od cytoplazmy komórki gospodarza błoną i przestrzenią periarbuskularną (apoplastyczny interfejs), które stanowią miejsce wymiany fosforanów oraz związków organicznych pomiędzy rośliną a grzybem [4]. Po upływie 7-10 dni arbuskule degenerują (zapadają się), podczas gdy komórki kory rośliny-gospodarza pozostają niezmienione [4].

Zanieczyszczenie gleb metalami śladowymi oraz ich zakwaszenie wpływają negatywnie na rośliny bobowate, ale także na ich symbionty [5,6]. Szacuje się, że w Polsce ponad 50% gleb użytkowanych rolniczo ma odczyn gleby poniżej 5.0 [6]. W ostatnich latach obserwuje się wzrost udziału gleb kwaśnych w ogólnym areale upraw zarówno w Polsce, jak i na świecie, co związane jest z postępującym zanieczyszczeniem środowiska, zwiększaniem nawożenia mineralnego, a także z włączaniem do użytkowania rolniczego gleb gorszej jakości [5-7]. Wraz ze spadkiem pH wzrasta rozpuszczalność kompleksów glinu (Al), a co za tym idzie, jego toksyczność dla roślin i mikroorganizmów [6,8]. Glin jest trzecim (po tlenie i krzemie), najpowszechniej występującym pierwiastkiem na powierzchni Ziemi [5,7]. Metal ten nie pełni żadnej znanej funkcji w metabolizmie roślin [8,9]. Mimo to uważany jest za główny czynnik ograniczający wzrost roślin, szczególnie na glebach kwaśnych [10]. Jednym z głównych problemów współczesnego rolnictwa i uprawy roślin na kwaśnych glebach mineralnych, w skali światowej jak i naszego kraju, jest toksyczność Al. Rozwiązaniem tego problemu, poza wapnowaniem gleb, jest dobór odpowiednich odmian roślin znoszących silne zanieczyszczenie glinem. Poszukiwane i bardzo cenione są gatunki lub odmiany wysoce tolerancyjne na Al. Nieliczne rośliny uprawne takie jak gryka (*Fagopyrum esculentum*, *Polygonaceae*) i herbata (*Camellia sinensis*, *Theaceae*) wykazują zdolność akumulowania Al. Toksyczność glinu dla roślin naczyniowych jest zależna głównie od koncentracji tego pierwiastka i czasu jego działania [9]. Stężenie glinu, w postaci jonów Al^{3+} i $Al(OH)_3$, w zakresie 0,1-30 mg/kg gleby są powszechnie uważane za toksyczne [11]. Zawartość glinu w

roślinach konsumpcyjnych i pastewnych ostatnio stała się przedmiotem zainteresowań badaczy, ponieważ nadmierna akumulacja tego pierwiastka wpływa toksycznie zarówno na człowieka jak i zwierzęta. Występowanie tego pierwiastka w roślinach bobowatych niekiedy bywa wysokie (>3000 ppm)[5]. Glin wpływa na rośliny bardzo szkodliwie. Najbardziej znaczącym symptomem toksycznego wpływu jonów glinu na rośliny jest zahamowanie wzrostu korzeni, a także redukcja liczby korzeni bocznych i włośników, czego następstwem są także zaburzenia w funkcjonowaniu układów symbiotycznych [8, 9-12]. Niskie dawki jonów glinu w krótkim czasie powodują usztywnienie ścian komórkowych korzeni oraz wywołują stres oksydacyjny, podczas gdy wyższe dawki w dłuższym okresie czasu uszkadzają błony komórkowe, DNA i hamują aktywność enzymów [8, 9-12]. Zahamowanie wzrostu wydłużeniowego korzeni u niektórych roślin może pojawić się już po upływie 30 min od ekspozycji na jony glinu [8, 9-12]. Szybkość tej odpowiedzi wskazuje, że jony tego pierwiastka w krótkim czasie zakłócają wzrost i wydłużanie komórek korzeni [11,12,39,43]. Toksyczność glinu wiąże się również z uszkodzaniem komórek strefy merystematycznej jak i elongacyjnej korzeni, z utrudnianiem pobierania i transportu głównych składników pokarmowych z roztworu glebowego, ze zmniejszeniem przyrostu biomasy oraz może doprowadzić do zmian w genotypach [8, 9-12].

Czy rośliny są w stanie bronić się przed toksycznymi jonami glinu? Ze względu na osiadły tryb życia i niemożność ucieczki z miejsca pobytu rośliny wytworzyły mechanizmy unikania i/lub tolerowania różnych stresów biotycznych i abiotycznych, w tym także tych aktywowanych w odpowiedzi na toksyczny glin [20-24]. **Mechanizm unikania** ma na celu zapobieganie przedostawania się jonów Al do rośliny i polega m.in. na wydzielaniu kwasów organicznych i chelatowaniu jonów Al, zwiększeniu pH ryzosfery, redystrybucji i internalizacji Al oraz modyfikacji ścian komórkowych. Drugi zaś **mechanizm wewnętrznej tolerancji** opiera się na tolerowaniu glinu, który już dostał się do rośliny, poprzez wiązanie go w nieaktywne kompleksy. Jednym ze skutecznych mechanizmów obronnych komórek roślinnych przeciwdziałających migracji toksycznych jonów Al^{3+} do cytoplazmy jest ich detoksykacja w apoplastie [20-22]. **Apoplast** to ciągły system ścian komórkowych oraz przestworów międzykomórkowych w roślinie. Badania ostatnich 20 lat ukazują apoplast jako strukturę podlegającą dynamicznym zmianom pod wpływem zarówno bodźców zewnętrznych jak i wewnętrznych. W organach symbiotycznych istnieją dodatkowe przedziały apoplastu. Środowiskiem życia i funkcjonowania endosymbiontów jest bowiem apoplast roślinny odpowiednio modyfikowany zarówno przez roślinę jak i symbionta. W brodawkach korzeniowych dodatkowy przedział apoplastowy tworzą nici infekcyjne [25]. W korzeniach zmikoryzowanych dodatkowy apoplast tworzy przestrzeń periarbuskularna (apoplastyczny interfejs) przylegająca do arbuskul [26]. Apoplast uczestniczy w percepcji stresu jak i odpowiedzi obronnej. Ściana komórkowa korzeni jest pierwszą barierą dla toksycznych jonów, a jednocześnie głównym miejscem ich toksycznego działania. Struktura ta jest miejscem gromadzenia metali toksycznych, które mogą przedostać się do protoplastu, oraz metali, które zostały usunięte z protoplastu. Ściana komórkowa zawiera polisacharydy, białka strukturalne oraz związki fenolowe, które wpływają na jej zdolność wiązania jonów metali [9,20-22,27,28]. Akumulacja metali w ścianie komórkowej powoduje modyfikacje jej struktury jak i właściwości [27-30]. Spośród komponentów ściany największą zdolność wiązania Al wykazują pektyny [21]. Wiązanie Al w ścianie powoduje jej grubienie i spadek stopnia rozciągliwości ściany, co prowadzi do zahamowania wzrostu korzeni i powstawania licznych pęknięć [11,12,20,21,30]. Spadek elastyczności ściany pod wpływem glinu jest wynikiem zmiany jej składu. Pod wpływem Al następuje bowiem w ścianach wzrost zawartości pektyn, hemiceluloz, glikoprotein, kalozy i ligniny, które znacznie ograniczają jej wzrost [27].

Ściana komórkowa jest preferowanym miejscem gromadzenia i sekwestracji metali w organizmie roślinnym. Jednak, unieruchomienie metali w ścianie komórkowej rośliny nie jest stabilne. Po przekroczeniu ściany komórkowej metale, w tym glin, wywołują zwiększoną podaż reaktywnych form tlenu (RFT) i/lub azotu (NO), czego efektem są uszkodzenia komórek wywołane stresem oksydacyjnym i nitrozacyjnym [23,31,32]. Częsteczki te, w wysokich stężeniach, powodują nieodwracalne uszkodzenia białek, lipidów i kwasów nukleinowych prowadzące do śmierci komórki [31,32,46]. Z drugiej zaś strony RFT i NO mogą pośrednio brać udział w reakcjach obronnych uczestnicząc w przebudowie apoplastu lub jako cząsteczki sygnałowe (wtórne przekaźniki sygnałów) w odpowiedzi zarówno na stres biotyczny jak i abiotyczny [33,34,46]. W roślinach bobowatych RFT są produkowane w sposób ciągły jako produkty uboczne różnych ścieżek fizjologicznych i metabolicznych, takich jak fotosynteza, oddychanie tlenowe i wiązanie azotu cząsteczkowego. W mikoryzie oraz w brodawkach korzeniowych RFT są zaangażowane we wszystkie etapy ich rozwoju od inicjacji, aż po starzenie [51,55]. W związku z tym, zarówno grzyby jak i ryzobia, a także całe rośliny rozwinęły złożony system przeciwutleniający chroniący strukturę symbiotycznych organów i ich efektywność [33-37,55]. Stężenie RFT jest precyzyjnie regulowane przez sprawnie funkcjonujący system antyoksydacyjny, na który składają się enzymy: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza (POX), peroksydaza glutationowa (GPX) oraz niskocząsteczkowe związki nieenzymatyczne takie jak: askorbinian, glutation, flawonoidy czy polifenole [33-37]. Stężenie NO również podlega ścisłej regulacji w miejscu jego działania, za co odpowiadają zarówno mechanizmy prowadzące do jego generowania, jak i usuwania. NO jest produkowany przy udziale syntazy tlenu azotu z L-argininy, w wyniku działania reduktazy azotanowej, jak również w wyniku przemian nieenzymatycznych, jako produkt pośredni w procesie wiązania azotu, oddychania czy denitryfikacji. W unieczynnianie NO zaangażowanych jest szereg związków takich jak: RFT, zredukowana forma glutationu, jony niektórych metali, czy niesymbiotyczna hemoglobina [31]. Kontrolowana produkcja RFT i NO umożliwia roślinom lepsze dostosowanie się do zmiennych warunków środowiska, jednak efektywność tego systemu w organach symbiotycznych poddanych stresowi glinowemu jest słabo poznana.

Mimo, że glin działa szkodliwie na rośliny bobowate i ich interakcje symbiotyczne, to jego wpływ na strukturę organów symbiotycznych i funkcjonowanie symbioz nie był dotychczas szczegółowo badany, podobnie jak przebudowa apoplastu w organach symbiotycznych związana z obroną przed toksycznym działaniem jonów glinu. Było to dla mnie kluczowym argumentem przemawiającym za zasadnością podjęcia badań w tym zakresie.

Hipoteza badawcza

Większość badań dotyczących toksyczności glinu została wykonana na gatunkach roślin jednoliściennych, podczas gdy badania roślin bobowatych należą do rzadkości. Symbiozy roślin bobowatych i mikroorganizmów są, w pewnym stopniu, zagrożone brakiem genotypów wysoce tolerancyjnych na jony glinu. Zagrożenie to nasila się wraz ze wzrostem zakwaszenia gleb, które jest z kolei skutkiem intensywnego wymywania składników zasadowych z gleby, także w wyniku działalności gospodarczej człowieka. Z uwagi na zwiększający się poziom metali toksycznych w środowisku, w tym glebie, dynamikę przekształceń zarówno obszarów miejskich, przemysłowych jak i rolnych oraz niewątpliwie negatywny wpływ tych zanieczyszczeń na zdrowie człowieka, prowadzenie kompleksowych prac badawczych w tym obszarze jest nie tylko w pełni uzasadnione, ale jest wprost kluczowym wyzwaniem, dla

współczesnych badań rolniczo-środowiskowych. Brakuje jednak prac badawczych podejmujących problematykę mechanizmów obronnych roślin bobowatych przed stresem glinowym i wpływu tego stresu na organy symbiotyczne i funkcjonowanie symbioz w warunkach tego stresu. Dlatego podjęłam badania zmierzające do weryfikacji hipotezy, że stres glinowy uruchamia w organach symbiotycznych wybranych gatunków roślin bobowatych mechanizm obronny oparty o przebudowę apoplastu. Poznanie mechanizmów obronnych brodawek korzeniowych i mikoryzy do warunków stresu wywołanego obecnością toksycznych jonów glinu, może zostać wykorzystane do uzyskania nowych odmian i osiągnięcia wyższej produktywności tych układów symbiotycznych w warunkach ekologicznego i zrównoważonego rolnictwa w przyszłości.

Gatunki roślin i mikroorganizmów wykorzystanych w badaniach oraz cele badawcze

Przedstawione jako *Osiągnięcie naukowe* publikacje obejmują badania wykonane w warunkach laboratoryjnych na układach symbiotycznych groch x ryzobia (*Pisum sativum* L. x *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*) oraz lucerna x ryzobia (*Medicago truncatula* Gaertn. x *Ensifer medicae* WSM419) i lucerna x grzyb AM (*M. truncatula* x *Rhizophagus irregularis*) traktowanych przez krótki okres wysoką dawką jonów glinu. Badania koncentrowały się na organach symbiotycznych (brodawkach korzeniowych i korzeniach zmikoryzowanych). Groch obok bobiku jest najczęściej uprawianą przez rolników rośliną strączkową w Polsce [52]. Ponadto, zarówno groch, jak i lucerna, są jednymi z podstawowych roślin paszowych dla zwierząt, a powierzchnia ich upraw zajmuje około 12–15% użytków rolnych w skali świata [1]. *M. truncatula* jest ważną rośliną paszową uprawianą głównie w Australii. Rośliny te są wytrzymałe na suszę, ze względu na rozbudowany system korzeniowy, ale wrażliwe na zakwaszenie gleby i glin. Blisko spokrewniona z lucerną siewną *M. truncatula* została uznana za odpowiedni gatunek modelowy dla roślin bobowatych. *M. truncatula*, z zsekwencjonowanym genomem, jest powszechnie wykorzystywana jako organizm modelowy w badaniach interakcji roślin i drobnoustrojów, a w szczególności symbiozy z ryzobiami i arbuskularnymi grzybami mikoryzowymi. Zarówno brodawki korzeniowe, jak i korzenie zmikoryzowane, ze względu na dużą aktywność metaboliczną i podatność na stresy abiotyczne, są bardzo dobrym modelem w badaniach interdyscyplinarnych dotyczących zależności pomiędzy strukturą i funkcją oraz adaptacji do warunków stresowych.

Celem moich badań było uzyskanie odpowiedzi na pytanie, jakie zmiany następują w apoplaście organów symbiotycznych (brodawek korzeniowych i korzeni zmikoryzowanych) wybranych gatunków roślin bobowatych poddanych stresowi glinowemu. Ogólny cel został osiągnięty przez realizację szczegółowych badań, na które składały się:

1. Identyfikacja zmian strukturalnych i ultrastrukturalnych w organach symbiotycznych roślin bobowatych wywołanych toksycznym działaniem glinu.
2. Określenie roli wybranych komponentów ściany komórkowej w mechanizmie obronnym przed stresem glinowym.
3. Określenie roli wybranych reaktywnych form tlenu i azotu w przebudowie ścian komórkowych organów symbiotycznych w odpowiedzi na stres glinowy.

Omówienie wyników badań i sposobu ich wykorzystania

1. Zmiany strukturalne i ultrastrukturalne w brodawkach i korzeniach znikoryzowanych wybranych gatunków roślin bobowatych wywołane stresem glinowym

W badaniach dotyczących brodawek korzeniowych, *M. truncatula* - *Ensifer medicae* (*Sinorhizobium medicae*) oraz groch – *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* posłużyły jako modele do badania toksyczności Al i mechanizmów obronnych brodawek przed stresem glinowym (P1-P5). Pierwszym etapem badań było określenie pierwotnego toksycznego działania glinu na strukturę brodawek. Rośliny poddano krótkotrwałemu stresowi glinowemu inkubując je przez 2 i 24 h w 50µM roztworze $AlCl_3$ (pH 4.5). W przypadku długotrwałego stresu (mierzonego w dniach od podania jonów metali) obserwowane modyfikacje mogą być spowodowane wtórnymi zmianami fizjologicznymi i biochemicznymi związanymi z toksycznością metali. Analizy zmian w strukturze brodawek wykonano przy pomocy klasycznych metody mikroskopii świetlnej i elektronowej.

Akumulację jonów glinu w brodawkach korzeniowych grochu wykazałam wykorzystując dwa barwniki cytochemiczne specyficznie wskazujące na obecność jonów Al^{3+} w komórkach i powszechnie wykorzystywane w badaniach mikroskopowych: hematoksylinę i morin. Wykazałam, że po 2h inkubacji (50µM $AlCl_3$), jony glinu akumulują się głównie w ścianach komórkowych peryferycznych komórek tkanek korowych brodawek korzeniowych, gdzie Al nie przekroczył granicy endodermy brodawki (P2). Po 24h inkubacji jony glinu przenikały do merystemu brodawki korzeniowej przez jej część apikalną, co ułatwione jest przez brak w tym miejscu endodermy, która ogranicza migrację jonów. Obserwowałam również, szczególnie w części apikalnej brodawki, grubienie warstwy kory zewnętrznej brodawek, będące wynikiem powiększenia wymiarów tych komórek. Wynik tego doświadczenia jednoznacznie dowodzi, że kora brodawki korzeniowej, stanowi główną barierę dla toksycznych jonów glinu i główne miejsce ich akumulacji.

Moim najważniejszy osiągnięciem badawczym było wykazanie, że brodawki korzeniowe są bardzo wrażliwe na stres glinowy, jednakże zmiany wywołane przez glin są w nich bardziej widoczne na poziomie komórkowym niż tkankowym (P1, P2). Nawet krótkotrwała (2h 50µM $AlCl_3$) ekspozycja na glin jest wystarczająca, aby spowodować uszkodzenia organelli rośliny-gospodarza, spadek ilości zakumulowanej skrobi, a także zaburzenia procesu infekcji komórek i przedwczesną degenerację tkanki bakteroidalnej. Analiza zmian ultrastrukturalnych przy pomocy transmisyjnego mikroskopu elektronowego (TEM), wykazała, że 24h inkubacja brodawek korzeniowych lucerny 50µM $AlCl_3$ spowodowała kurczenie wakuol, uszkodzenia błon mitochondriów i retikulum endoplazmatycznego, zmianę struktury aparatów Golgiego oraz powiększenie jąder komórkowych. Glin powodował również deformacje błon peribakteroidalnych symbiosomów i przedwczesną degradację bakteroidów (P1).

Brodawki korzeniowe różnią się od korzeni mechanizmami powstawania, budową, funkcją oraz fizjologią ze szczególnym naciskiem na wymagania i możliwości gospodarki związkami energetycznymi (asymilatami). Mimo to wykazałam, że niektóre reakcje obronne apoplastu brodawek traktowanych glinem są zbliżone do korzeniowych [40, 41]. Wykazałam, że w warunkach stresu glinowego ma miejsce znaczne grubienie ścian komórkowych (często nieregularne) zarówno komórek roślinnych jak i ścian nici infekcyjnych. Liczne pęcherzyki w pobliżu grubiejących ścian wskazywały na intensywny proces egzocytozy i transport w nich nowego materiału polisacharydowego odkładanego do ściany komórkowej. Wykazałam po raz pierwszy, że jony glinu powodowały zmiany strukturalne w niciach

infekcyjnych. Ściana nici infekcyjnych ulegała silnemu pogrubieniu, pojawiały się w niej dodatkowe warstwy i nieregularne zgrubienia na wierzchołkach nici (**P1, P2**). Większość nici infekcyjnych nie miała typowej cylindrycznej formy, lecz była mocno rozgałęziona i otaczała znaczną liczbę bakterii. Wskazuje to na zaburzenia procesów wzrostu nici i endocytozy bakterii z nici infekcyjnych do protoplastów komórek tkanki bakteroidalnej spowodowane grubieniem i usztywnieniem ścian nici infekcyjnych. Grubienie ścian mogło być wynikiem zwiększonej syntezy komponentów ściany i usztywnienia sieci polisacharydowej ściany. Zagadnienie to stało się przyczynkiem do późniejszych moich badań nad modyfikacją apoplastu brodawek korzeniowych w warunkach stresu glinowego (**P3-P5**).

Reakcję mikoryzy na stres glinowy (ekspozycja przez 3h w 50μM AlCl₃ o pH 4.3) badałam w układzie *M. truncatula* - grzyb *Rhizophagus irregularis* tworzącym mikoryzę arbuskularną (**P7**). W trakcie rozwoju mikoryzy strzępki grzyba tworzyły typowe drzewiaste arbuskule w komórkach miękiszu kory pierwotnej korzeni. Arbuskule były odizolowane od cytoplazmy komórek gospodarza błoną i warstwą materiału ściennego (tzw. przestrzeń periarbuskularna lub apoplastyczny interfejs). W mikoryzie arbuskularnej symbiotyczny interfejs jest wyspecjalizowaną strefą apoplastową, złożoną z grzybowych i roślinnych materiałów ściany komórkowej, służącą wymianie składników odżywczych pomiędzy symbiontami. Przestrzeń ta składa się z luźno ułożonych polimerów ściany komórkowej, w tym celulozy, hemiceluloz, pektyn i białek bogatych w arabinogalaktyki i hydroksyprolinę [47,49]. Wytworzenie arbuskul, a zarazem interfejsu, jest jednym z najważniejszych etapów, prowadzących do pomyślnego rozwoju symbiozy mikoryzowej [3,47,50]. Biorąc pod uwagę fakt, że w mikoryzie arbuskularnej apoplastyczny interfejs stanowi szczególną formę kontroli rozwoju grzyba na terenie komórki roślinnej, należy się spodziewać, że zmiany właściwości tego przedziału będą bezpośrednio przekładać się na funkcjonowanie symbiozy. W badaniach wykazałam po raz pierwszy, że krótkotrwały (3h 50μM AlCl₃) stres glinowy powoduje grubienie ścian komórkowych komórek kory pierwotnej korzeni i warstwy przestrzeni apoplastycznej wokół arbuskul, co jest przejawem reakcji obronnej związanej z utrudnianiem migracji toksycznych jonów glinu do cytoplazmy.

Wyżej opisane wyniki badań zostały przedstawione w pracach eksperymentalnych:

P1. Sujkowska-Rybkowska M, Borucki W, Znojek E, 2012. Structural changes in *Medicago truncatula* root nodules caused by short-term aluminum stress. *Symbiosis* 58:161-170.

P2. Sujkowska-Rybkowska M, 2012. Reactive oxygen species production and antioxidative defense in pea (*Pisum sativum* L.) root nodules after short-term aluminum treatment. *Acta Physiologiae Plantarum* 34:1387-1400.

P7. Sujkowska-Rybkowska M i Znojek E, 2018. Localization of calreticulin and calcium ions in mycorrhizal roots of *Medicago truncatula* in response to aluminum stress. *Journal of Plant Physiology* 229:22-31.

2. Rola wybranych komponentów ściany komórkowej w mechanizmie obronnym roślin przed stresem glinowym.

W glebie brodawki korzeniowe są unikalną niszą dla wiążących azot ryzobiów, a ich ściany komórkowe stanowią pierwszą linię obrony przed toksycznymi jonami glinu. W badaniach brodawek korzeniowych grochu i lucerny wykazałam po raz pierwszy, że glin indukował grubienie ścian komórkowych komórek tkanki bakteroidalnej i tkanek korowych brodawek korzeniowych, a także ścian nici infekcyjnych, co mogło istotnie ograniczać napływ jonów glinu do tkanki bakteroidalnej, jak również wpływać na proces kolonizacji przez ryzobia. Badania innych autorów wskazywały, że indukowane przez glin usztywnienie

ścian komórkowych w korzeniach może być spowodowane odkładaniem nowych polimerów w ścianie, wzrostem aktywności sieciowania ściany lub zahamowaniem produkcji białek rozluźniających strukturę ściany komórkowej [9,12,20]. W kontekście obserwowanych zmian w apoplacie brodawek grochu wywołanych działaniem jonów glinu przeprowadziłam badania immunocytochemiczne z wykorzystaniem specyficznych przeciwciał identyfikujących składniki ściany komórkowej, takie jak pektyny i białka ekstensyny, podejrzewane o udział w procesach usztywniania ścian komórkowych (P4, P5).

Ekstensyny (EXT) to białka strukturalne ściany komórkowej bogate w hydroksyprolinę, powszechnie występujące w większości tkanek roślinnych, jak również w matriks nici infekcyjnych i przestrzeni periarbuskularnej [47,48]. Ich powszechnie akceptowaną funkcją jest usztywnianie i stabilizacja struktury ścian komórkowych w komórkach, które zakończyły wzrost i różnicowanie. Białka te ulegają powolnej insolubilizacji w ścianie komórkowej w reakcji oksydacyjnego sieciowania białek (przy udziale nadtlenu wodoru) katalizowanej przez związaną ze ścianą komórkową peroksydazę. Proces ten ulega jednak znacznemu przyspieszeniu pod wpływem stresu. Do zlokalizowania miejsc występowania ekstensyn w apoplacie brodawek korzeniowych grochu wykorzystałam przeciwciało monoklonalne LM1 (Plant Probes, UK) (P4). Moim osiągnięciem było wykazanie po raz pierwszy, że w apoplacie brodawek korzeniowych traktowanych glinem (24h 50µM AlCl₃) wzrasta znacznie ilość EXT. Badania immunocytochemiczne wykazały wzrost akumulacji EXT w matriks powiększonych nici infekcyjnych, w zgrubiałych ścianach komórkowych oraz w świetle przestworów międzykomórkowych tkanek korowych brodawek traktowanych glinem. Wypełnione EXT przestwory międzykomórkowe tkanek korowych brodawek mogą stanowić istotną część tzw. bariery dyfuzyjnej ograniczającej przemieszczanie toksycznych jonów glinu do tkanki bakteroidalnej, w której zachodzi wiązanie azotu [48,49]. Potwierdzała to obserwowana kumulacja glinu (np. wyniki barwienia morinem, opisane powyżej) ograniczona jedynie do apoplastu peryferycznych tkanek korowych brodawki (P2). Ponadto ustaliłam, że wierzchołki nici infekcyjnych (typowo pozbawione ściany) otoczone były grubą warstwą materiału ściennego, któremu towarzyszyła znaczna ilość EXT. Akumulacja tych białek utrzymywała się również wokół uwalnianych z nici infekcyjnej bakterii. Ponieważ wierzchołek nici był często otoczony grubą warstwą materiału ściennego, nici tworzyły liczne rozgałęzienia. Wykazałam po raz pierwszy, że indukowana glinem obecność ściany na wierzchołku nici infekcyjnej utrudnia uwalnianie bakterii, co jest przejawem reakcji obronnej ze strony rośliny. Zaburzenia procesu uwalniania ryzobiów z nici infekcyjnych mogło zatem wynikać z grubienia ściany, ale również z usztywnienia matriks nici przy udziale EXT. EXT w niciach infekcyjnych regulują bowiem płynność matriks, która wpływa na jej usztywnienie i wzrost [48]. Wzrost nici infekcyjnej jest kontrolowany przez stopień sieciowania EXT, a proces ten z kolei jest zależny od dostępności i ilości nadtlenu wodoru. Potwierdziły to moje dalsze badania, w których wykazałam, że traktowanie jonami glinu zwiększa aktywność oksydazy diaminowej (enzymu ściany komórkowej generującego H₂O₂) i w rezultacie powoduje akumulację nadtlenu wodoru także w matriks nici infekcyjnych (P3). Zatem wzrost ilości ekstensyn i ich sieciowanie przez peroksydazę ściany komórkowej przy wysokich stężeniach nadtlenu wodoru może być jednym z mechanizmów obronnych rośliny przed szkodliwymi jonami glinu. Z drugiej zaś strony, proces ten może mieć niekorzystny wpływ na rozwój symbiozy brodawkowej, gdyż hamuje wzrost nici infekcyjnych i utrudnia proces uwalniania bakterii i tworzenia symbiosomów.

Kolejnym analizowanym przeze mnie komponentem ścian komórkowych, w brodawkach korzeniowych grochu, związanym z procesem grubienia i usztywniania ścian pod wpływem glinu, były pektyny (P5). Pektyny występują powszechnie i w dużych ilościach w

pierwotnych ścianach komórkowych, gdzie odpowiedzialne są za regulację adhezji międzykomórkowej. W ścianach komórek, które zakończyły wzrost wydłużeniowy ich ilość znacznie spada. Pektyny odgrywają ważną rolę w wiązaniu jonów metali w ścianie komórkowej. Są one syntetyzowane na terenie cystern aparatu Golgiego, transportowane w pęcherzykach i wydzielane do ściany w postaci wysoko zestryfikowanej. Taka forma pektyn wpływa na rozluźnienie struktury ściany komórkowej i jest modulowana przez apoplastową metyloesterazę pektyn [21]. De-estryfikacja pektyn powoduje, że pektyny są sieciowane przez jony wapnia, co zmniejsza elastyczność ściany komórkowej. Pektyny estryfikowane są charakterystyczne dla ścian wysoce plastycznych, jak np. ściany komórek merystematycznych i komórek wydłużających się. Natomiast ściany komórek różnicujących się stają się sztywne i mają niski poziom metylacji pektyn. Mając podobny ładunek jony Al^{3+} mogą wiązać pektyny de-estryfikowane i wypierać Ca^{2+} , jako jon sieciujący, i tym samym usztywniać strukturę ściany, co prowadzi do zahamowania wzrostu korzeni [21]. W badaniach brodawek korzeniowych, dotyczących możliwego zaangażowania pektyn w proces grubienia ścian komórkowych i hamowania wzrostu nici infekcyjnych w warunkach stresu wywołanego glinem, zastosowałam histochemiczne barwienie czerwienią rutenową (czerwona barwa wskazuje na obecność pektyn de-estryfikowanych) oraz metodę immunocytochemiczną z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych specyficznych dla pektyn o wysokiej estryfikacji metylowej (tzw. estryfikowanych, JIM7), pektyn o niskiej estryfikacji metylowej (tzw. de-estryfikowanych, JIM5) i pektyn sieciowanych wapniem (2F4)(Plant Probes, UK). Barwienie czerwienią rutenową wykazało, że w apoplaście brodawek korzeniowych traktowanych przez 2 i 24h 50μM $AlCl_3$ wzrasta zawartość pektyn de-estryfikowanych. Znaczne ich ilości występowały w ścianach komórkowych tkanek korowych brodawki korzeniowej, tkanki bakteroidalnej oraz niciach infekcyjnych. Moim osiągnięciem było wykazanie po raz pierwszy, że w brodawkach korzeniowych traktowanych glinem zwiększa się akumulacja frakcji pektyn de-estryfikowanych, przy jednoczesnym spadku ilości pektyn zestryfikowanych. Immunocytochemiczna lokalizacja pektyn z użyciem złota koloidalnego wykazała, że rosnący poziom zarówno pektyn de-estryfikowanych, jak i pektyn związanych z wapniem oraz obniżenie poziomu pektyn estryfikowanych były dodatnio skorelowane ze zwiększaniem grubości ścian komórkowych, jak i ścian nici infekcyjnych. Zwiększenie ilości pektyn de-estryfikowanych przyczynia się do tworzenia większej liczby miejsc wiążących jony Al^{3+} , co z kolei nadaje ścianie sztywność. Wywołane obecnością glinu zwiększenie ilości pektyn de-estryfikowanych w grubych ścianach nici infekcyjnych może prowadzić do wytworzenia sztywnego pektynowego żelu. Intensywna de-estryfikacja pektyn w ścianie nici infekcyjnej jest najbardziej prawdopodobną przyczyną grubienia jej ścian. W ten sposób wzrasta pojemność ścian komórkowych i ich możliwości gromadzenia metali, jako mechanizm obronny komórki roślinnej przed toksycznym działaniem glinu.

W badaniach dotyczących mikoryzy arbuskularnej wykazałam po raz pierwszy, że w korzeniach zmikoryzowanych *M. truncatula* jony glinu indukowały grubienie ścian komórek kory i przestrzeni apoplastycznego interfejsu (P7). W pracy tej badałam możliwe zaangażowanie jonów wapnia oraz białka kalretikuliny (CRT) w proces przebudowy apoplastu w warunkach stresu glinowego. Ca^{2+} jest kluczowym wtórnym przekaźnikiem w procesach funkcjonalnych i w odpowiedzi komórki na stres biotyczny i abiotyczny. CRT zaś jest białkiem buforującym jony Ca^{2+} , które uczestniczy w wielu procesach komórkowych, w tym przechowywaniu Ca^{2+} i sygnalizacji, regulacji ekspresji genów, adhezji komórek, regeneracji i apoptozie oraz w reakcjach obronnych, w tym w odporności roślin na stres środowiskowy. W badaniach zastosowałam histochemiczną lokalizację jonów wapnia z użyciem piroantymonianu potasu (z wolnymi jonami wapnia tworzy strąty antymonianu wapnia) oraz metodę immunocytochemiczną z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych

specyficznych dla białka kalretikuliny (anty-CRT, Sigma). W pracy wykazałam po raz pierwszy, że przebudowa ścian komórkowych i przestrzeni periarbuskularnej związana jest ze zwiększoną ilością wolnych jonów Ca^{2+} , która była, z kolei, ściśle skorelowana z obecnością białka kalretikuliny (CRT). W badaniach wykazałam ko-lokalizację jonów wapnia i CRT na powierzchni arbuskul i strzępek grzyba, ściany komórkowej oraz w świetle przestworów międzykomórkowych. Dodatkowo wykazałam, że degeneracji arbuskul towarzyszyła akumulacja jonów Ca^{2+} i białka CRT. Ko-lokalizacja CRT i Ca^{2+} wskazuje na udział CRT w mobilizacji jonów wapnia w mikoryzie i pośredni jej udział w reakcji obronnej na stres glinu. W prezentowanych badaniach glin zwiększał bowiem ilość białka CRT i indukował wzrost akumulacji Ca^{2+} w przestrzeni apoplastycznej wokół arbuskul, co jest przejawem mechanizmu obronnego ze strony rośliny. Wiadomym jest, że Ca^{2+} modyfikuje właściwości ściany komórkowej, która jest głównym miejscem toksycznego działania glinu. Wzrost wolnych jonów wapnia obserwowano wzdłuż grubych ścian i w pogrubionej warstwy apoplastycznego interfejsu, prawdopodobnie było konsekwencją interakcji między jonami wapnia, a pektynami de-estryfikowanymi apoplastu. Świadczy to nie tylko o istotnej roli wapnia jak i białka CRT w prawidłowym rozwoju mikoryzy i odpowiedzi na stres glinu, ale też wskazuje, że reorganizacja apoplastu i rozmieszczenie kalretikuliny i wapnia są ze sobą skorelowane.

Wyżej opisane wyniki badań zostały przedstawione w pracach eksperymentalnych:

P4. Sujkowska-Rybkowska M. i Borucki W., 2014. Accumulation and localization of extensin protein in apoplast of pea root nodule under aluminum stress. *Micron* 67:10-19

P5. Sujkowska-Rybkowska M. i Borucki W., 2015. Pectins esterification in the apoplast of aluminum-treated pea root nodules. *Journal of Plant Physiology* 20:184:1-7.

P7. Sujkowska-Rybkowska M. i Znojek E., 2018. Localization of calreticulin and calcium ions in mycorrhizal roots of *Medicago truncatula* in response to aluminum stress. *Journal of Plant Physiology* 229: 22–31

3. Zaangażowanie wybranych reaktywnych form tlenu i azotu w przebudowę apoplastu w odpowiedzi na stres glinowy.

Toksyczność glinu wywołuje również stres oksydacyjny w następstwie zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu (RFT). Wysoka akumulacja RFT w korzeniach w odpowiedzi na glin prowadzi do peroksydacji lipidów, uszkodzenia DNA i śmierci komórki [43]. W brodawkach korzeniowych RFT są zaangażowane we wszystkie etapy ich rozwoju od inicjacji, aż po starzenie. Brodawki posiadają zatem sprawny enzymatyczny system antyoksydacyjny: katalazę (CAT), dysmutazę nadutlenkową (SOD) oraz peroksydazę (POX) usuwający nadmiar powstałych RFT. Katalaza (CAT) katalizuje reakcję redukcji nadtlenku wodoru, prowadzącą do powstania tlenu cząsteczkowego i wody. SOD katalizuje reakcję przekształcenia anionorodnika nadutlenkowego do nadtlenku wodoru i tlenu cząsteczkowego. POX zaś katalizuje reakcje utleniania nadtlenkiem wodoru wielu różnych substratów organicznych i nieorganicznych [32]. Jedną z funkcji ściennych POX jest modyfikacja ścian z wykorzystywaniem nadtlenku wodoru. Ścienne peroksydazy przy udziale H_2O_2 katalizują bowiem tworzenie wiązań pomiędzy składnikami ściany komórkowej [32]. Poziom RFT, jak i aktywność systemu antyoksydacyjnego w brodawkach w obecności toksycznych jonów glinu nie był jednak wcześniej badany. W moich badaniach w brodawkach korzeniowych grochu traktowanych przez 2h i 24h $50\mu\text{M AlCl}_3$ po raz pierwszy analizowano cytochemicznie poziom wybranych RFT (anionorodnik nadutlenkowy $\text{O}_2^{\cdot-}$ i nadtlenek wodoru H_2O_2) oraz spektrofotometrycznie aktywność enzymów przeciwutleniających, CAT, SOD i POX (P2). W brodawkach kontrolnych

(nietraktowanych glinem) nadtlenek wodoru lokalizowano w ścianach komórkowych komórek kory zewnętrznej brodawki, tkanki bakteroidalnej i w ścianach nici infekcyjnych, podczas gdy anionorodnik ponadtlenkowy występował w cytoplazmie merystemu i tkanki bakteroidalnej. Moim osiągnięciem było wykazanie po raz pierwszy, że glin powodował wzrost ilości RFT, które gromadziły się zarówno w symplaście, jak i apoplaście komórek brodawek korzeniowych grochu. Badania spektrofotometryczne wykazały, że wzrostowi ilości RFT towarzyszył spadek aktywności CAT oraz wzrost aktywności SOD oraz POX. Zwiększona aktywność ściennej POX przy jednoczesnym spadku aktywności CAT wskazuje, że w brodawkach korzeniowych traktowanych glinem, H_2O_2 jest głównie zużywany w procesach utleniania składników ściany komórkowej, aniżeli w reakcjach detoksykacji. Histochemiczna lokalizacja POX potwierdziła ko-lokalizację z miejscami występowania H_2O_2 i jonów glinu, które były obecne przede wszystkim w ścianach komórkowych komórek tkanek korowych brodawki korzeniowej oraz w ścianach nici infekcyjnych. POX, które występują obficie w brodawkach korzeniowych traktowanych glinem, wydają się grać główną rolę zarówno w działaniu przeciwutleniającym, jak i procesach modyfikacji ścian komórkowych. Zwiększona aktywność SOD była odpowiedzią obronną rośliny na zaindukowany przez glin wzrost ilości rodnika ponadtlenkowego w brodawkach korzeniowych. Enzym ten działa ochronnie na nitrogenazę i chroni proces wiązania azotu cząsteczkowego przez ryzobia [56].

Działanie RFT w komórkach roślinnych oprócz tego, że wywołują stres oksydacyjny, przejawia się też ich funkcją sygnałową. Rolę tę pełni przede wszystkim H_2O_2 , który nie ma charakteru wolnorodnikowego. Posiada zdolność do swobodnego przemieszczania się przez błony biologiczne i może zatem oddziaływać z różnymi składnikami komórki np. modyfikować strukturę białek ściany poza miejscem, w którym powstaje. Z tego względu H_2O_2 uznawany jest wtórną cząsteczkę sygnałową w komórkach roślinnych. Dla wyjaśnienia możliwego udziału H_2O_2 w wywołanym przez jony glinu grubieniu ścian i zaburzeniach wzrostu nici infekcyjnych w brodawkach korzeniowych zastosowałam metodę cytochemiczną z chlorkiem ceru lokalizującą enzym oksydazę diaminową (DAO) generującą H_2O_2 oraz nadtlenek wodoru (P3). Moim osiągnięciem było wykazanie po raz pierwszy na poziomie ultrastrukturalnym, że w czasie stresu glinowego następuje zwiększona akumulacja nadtlenu wodoru w ścianach komórkowych brodawek i niciach infekcyjnych. Cząsteczki nadtlenu wodoru są wykorzystywane w reakcjach sieciowania białek EXT w matriksie nici, jak i w ścianie nici, co prowadzi do ich wzmocnienia. Wykazałam również, że w generowaniu cząsteczek nadtlenu wodoru, modyfikującego apoplast brodawek w warunkach stresu glinowego uczestniczy enzym ściany komórkowej - oksydaza diaminowa (DAO). Obserwowałam ko-lokalizację DAO i H_2O_2 w rozbudowanych niciach infekcyjnych, zgrubiałych ścianach komórkowych oraz przestworach międzykomórkowych, co sugeruje, że głównym źródłem nadtlenu wodoru generowanego pod wpływem glinu jest DAO.

Dostępne dane literaturowe wskazują na udział tlenku azotu (NO) w pre-kolonizacji korzeni przez grzyby mikoryzowe, regulacji odpowiedzi roślin na stres oraz na jego udział w metabolizmie ściany komórkowej, która jest głównym celem toksycznego działania jonów glinu [51]. Tlenek azotu pojawia się w komórkach roślinnych w wyniku procesów zachodzących z udziałem enzymów (reduktazy azotanowej, NR; reduktazy azotynowej, NIR-NOR; z argininy przy udziale syntazy tlenku azotu, NOS) lub w wyniku przemian nieenzymatycznych. W apoplaście, który charakteryzuje się kwaśnym pH, NO może postawać z redukcji azotynów [51]. Oczywiście jest, że poziom NO musi być ściśle regulowany w miejscu jego działania. Ilość NO jest redukowana w komórkach wskutek reakcji z rodnikiem ponadtlenkowym tworząc jon peroksynitrylowy, z glutationem lub grupami tiolowymi cysteiny prowadząc do S-nitrozytacji białek, czy z niesymbiotyczną hemoglobina [51]. Nie wykazano dotychczas

lokalizacji NO w funkcjonującej mikoryzie arbuskularnej. W swoich badaniach prowadzonych na zmikoryzowanych korzeniach lucerny traktowanych glinem przetestowałam, po raz pierwszy, udział kilku kluczowych składników metabolizmu NO, w tym ekspresję genów enzymu NR kodujących enzym reduktazy azotanowej (*MtNRI*, *MtNR2* i *MtNIR1*) związanej z syntezą NO oraz enzymów usuwających NO, takich jak reduktaza S-nitrozoglutationu oraz niesymbiotyczna hemoglobina HB (*MtGSNOR1*, *MtGSNOR2*, *MtHBI* i *MtHB2*). Określiłam także lokalizację i poziom akumulacji NO oraz profil nitrowania tyrozyny (NO₂-Tyr). W badaniach tych, po raz pierwszy, wykazałam lokalizację NO w funkcjonującej mikoryzie (za pomocą barwnika diocjanu diaminofluoresceiny, DAF-2DA). NO występował na powierzchni struktur grzybowych (arbuskul oraz strzępek), a w szczególności wokół degradujących arbuskul. Obserwowana zwiększona ilość NO na powierzchni arbuskul wskazywała, że pewien poziom NO jest wymagany do funkcjonowania arbuskul. W swoich badaniach wykazałam, że NO uczestniczy w modyfikacji przestrzeni apoplastowej wokół arbuskul i może być produkowany zarówno przez komórki roślinne, jak i strzępki grzyba. Stres glinowy powodował grubienie przestrzeni apoplastycznej wokół arbuskul i jednocześnie generował spadek ilości gromadzonego wokół nich NO. Spadek ilości NO w korzeniach zmikoryzowanych traktowanych glinem, był skorelowany ze wzrostem ekspresji genów kodujących enzymy zaangażowane w procesy usuwania NO (*MtGSNOR1*, *MtGSNOR2*, *MtHBI* i *MtHB2*).

Wyprodukowany NO może wchodzić w reakcje z aminokwasami, takimi jak tyrozyna, co prowadzi do postranslacyjnej modyfikacji białek. Uważa się, że proces nitracji białek stanowi podstawę licznych procesów komórkowych w roślinach związanych z rozwojem, reakcjami środowiskowymi i obronnymi. Obecność 3-nitrotyrozyny jest markerem stresu nitrozacyjnego, a także odgrywa ważną rolę w regulacji podstawowych procesów biologicznych, gdyż dotyczy białek kluczowych w ochronie przed stresem oksydacyjnym [46,51]. Do zlokalizowania miejsc występowania nitrowanej tyrozyny w korzeniach lucerny wykorzystałam poliklonalne przeciwciało przeciwko 3-nitrotyrozynie (anty 3-NT, Sigma). Badania immunocytochemiczne wykazały po raz pierwszy, że w korzeniach kontrolnych, niezmikoryzowanych 3-nitrotyrozyna obecna była zarówno w ścianach komórkowych jak i cytoplazmie komórek kory korzeni. Stres glinowy zwiększył ilość 3-nitrotyrozyny w korzeniach niezmikoryzowanych. Badania korzeni zmikoryzowanych lucerny wykazały dodatkowo obecność 3-nitrotyrozyny na powierzchni struktur grzybowych, a jej ilość zwiększała się wokół degradujących arbuskul. Nitrowane białka mogą zatem uczestniczyć w tworzeniu apoplastowego interfejsu pomiędzy symbiontami i w rozwoju arbuskul. Analiza ilościowa wykazała, że w warunkach stresu glinowego mikoryza obniżała poziom nitrowanej tyrozyny, co było skorelowane ze zmniejszoną akumulacją NO. Wyniki te wskazują, że mikoryza obniża poziom stresu nitrozacyjnego w korzeniach roślin lucerny traktowanych glinem.

Wyżej opisane wyniki badań zostały przedstawione w pracach eksperymentalnych:

P2. Sujkowska-Rybikowska M, 2012. Reactive oxygen species production and antioxidative defense in pea (*Pisum sativum* L.) root nodules after short-term aluminum treatment. *Acta Physiologiae Plantarum* 34:1387-1400.

P3. Sujkowska-Rybikowska M i Borucki W, 2014. Localization of hydrogen peroxide accumulation and diamine oxidase activity in pea root nodules under aluminum stress. *Micron* 57:13-22.

P6. Sujkowska-Rybikowska M, Czarnocka W, Sańko-Sawczenko I, Witoń D, 2018. Effect of short-term aluminum stress and mycorrhizal inoculation on nitric oxide metabolism in *Medicago truncatula* roots. *Journal of Plant Physiology* 220:145-154.

Podsumowanie

Przedstawione powyżej *Osiągnięcie naukowe* opracowano na podstawie jednotematycznego cyklu publikacji, których głównym celem było wykazanie roli i zakresu przebudowy apoplastu w organach symbiotycznych (w brodawkach korzeniowych i mikoryzie) wybranych gatunków roślin bobowatych przeciwdziałających stresowi glinowemu. Badania układu rośliny bobowate - ryzobia - grzyby arbuskularne dostarczają wielu cennych danych dotyczących molekularnych mechanizmów interakcji międzygatunkowych. Znajomość struktury i form modyfikacji ścian komórkowych pod wpływem stresu abiotycznego jest niezbędna dla zrozumienia ich funkcji podczas rozwoju roślin i ich adaptacji do warunków stresowych. Zrozumienie mechanizmów związanych z tolerancją na stres abiotyczny stanowi solidną podstawę do wyboru symbiontów oraz odmian roślin bobowatych o zwiększonej tolerancji na ograniczenia środowiskowe i ich zastosowania zarówno w rolnictwie, jak i w bioremediacji terenów skażonych metalami.

Podsumowując swoje wyniki uzyskane w ramach *Osiągnięcia naukowego* stwierdzam, że:

- Zarówno apoplast brodawek korzeniowych jak i korzeni zmikoryzowanych ulega przebudowie w odpowiedzi na stres glinowy.
- Glin jest pobierany przez brodawki korzeniowe i jest akumulowany w apoplaście komórek tkanek korowych. Gromadząc jony glinu komórki te pełnią funkcję bariery utrudniającej migrację metali do tkanki bakteroidalnej.
- Stres glinowy powoduje grubienie ścian komórkowych i ścian nici infekcyjnych w brodawkach korzeniowych oraz apoplastycznego interfejsu wokół arbuskul w korzeniach zmikoryzowanych.
- Grubienie ścian nici infekcyjnych w brodawkach korzeniowych poddanych działaniu jonów glinu ogranicza wzrost wydłużeniowy nici oraz proces uwalniania bakterii.
- W grubieniu i usztywnianiu ścian w brodawkach przeciwdziałającemu migracji jonów glinu biorą udział ekstensyny.
- Ograniczony wzrost nici infekcyjnych w brodawkach korzeniowych wywołany jonami glinu związany jest ze wzrostem usieciowania ekstensyn w matriks nici infekcyjnej przy udziale nadtlenu wodoru i ściennej peroksydazy. Za zwiększoną podaż nadtlenu wodoru indukowaną glinem w brodawkach korzeniowych odpowiedzialna jest oksydaza diaminy.
- Wzrost ilości pektyn de-estryfikowanych odgrywa ważną rolę w grubieniu i usztywnianiu ścian komórkowych w brodawkach korzeniowych.
- Zależny od glinu wzrost ilości pektyn de-estryfikowanych i niski poziom pektyn estryfikowanych korelują z grubieniem i sztywnością ścian nici infekcyjnych, ograniczając wzrost nici infekcyjnych.
- Stres glinowy indukuje produkcję reaktywnych form tlenu (rodnik ponadtlenkowy i H_2O_2) i/lub hamuje aktywność katalazy. W warunkach stresu glinowego ścienna peroksydaza i dysmutaza ponadtlenkowa odgrywają główną rolę w usuwaniu wolnych rodników w brodawkach korzeniowych. Wzrost aktywności ściennej peroksydazy i ilości nadtlenu wodoru towarzyszy rozbudowie i usztywnianiu ścian komórkowych, co przeciwdziała przemieszczaniu się jonów glinu w głąb tkanek brodawek korzeniowych.

- Jony wapnia, jak i białko kalretikulina, pełnią ważną rolę w prawidłowym rozwoju mikoryzy, ale również uczestniczą w grubieniu apoplastycznego interfejsu wokół arbuskul w odpowiedzi na obecność jonów glinu, a rozmieszczenie kalretikuliny i jonów wapnia są ze sobą skorelowane.
- NO uczestniczy w modyfikacji apoplastycznego interfejsu wokół arbuskul i jest bezpośrednio zaangażowany w proces akomodacji mikrosymbionta grzybowego w komórkach zmikoryzowanych korzeni. NO może również powodować nitrację białek ściany zawierających tyrozynę i zmieniać tym samym właściwości apoplastu.
- Mikoryza znosi stres nitrozacyjny wywołany toksycznym działaniem jonów glinu.

5. Wykaz cytowanej literatury:

- [1] Graham PH, i Vance CP (2003) Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiol.* 131: 872–877.
- [2] Vance CP. (1998) Legume Symbiotic Nitrogen Fixation: Agronomic Aspects. W: *The Rhizobiaceae*, str. 509-530
- [3] Jones KM, Kobayashi H, Davies BW, Taga ME, Walker GC (2007) How rhizobial symbionts invade plants: the *Sinorhizobium-Medicago* model. *Nat Rev Microbiol* 5:619–633
- [4] Smith E i Read. J (2008) Mycorrhizal symbiosis. Third edition. Academic Press. Harcourt Brace & Company, Publishers.
- [5] Kabata-Pendias A, i Pendias H. (1999) Biogeochemia pierwiastków śladowych. PWN. 192-198
- [6] Gworek B. (2006) Glin w środowisku przyrodniczym a jego toksyczność. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 29:27-37.
- [7] Filipek T, i Skowrońska M. (2013) Aktualnie dominujące przyczyny oraz skutki zakwaszenia gleb użytkowanych rolniczo w Polsce. *Acta Agrophys.* 20: 283-294
- [8] Matsumoto H. (2000) Cell biology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants. *Int. Rev. Cytol.* 200: 1–46.
- [9] Kochian LV. (1995) Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46:237-260
- [10] Lilienfein J, Qualls RG, Uselman SM, Bridgham SD. (2003) Soil formation and organic matter accretion in a young and esitic chronosequence at Mt. Shasta, California. *Geoderma* 116, 249-64.
- [11] Kochian LV, Piñeros MA, and Hoekenga OA. (2005) The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminium resistance and toxicity. *Plant Soil.* 274: 175-95.
- [12] Ma JF, Shen RF, Nagao S, Tanimoto E. (2004) Aluminum targets elongating cells by reducing cell wall extensibility in wheat roots. *Plant Cell Physiol.* 45:583-589
- [13] Panda SK, Baluska F, Matsumoto H. (2009) Aluminum stress signaling in plants. *Plant Signal Behav.* 4: 592-597.
- [14] Zahran HH. (1999) Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiol Mol Biol Rev.* 63:968-989
- [15] Gruber N, i Galloway JN. (2008) An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature.* 451: 293–296.
- [16] Giller KE, Witter E, McGrath SP. (2009) Heavy metals and soil microbes. *Soil Biol Biochem.* 41: 2031-2037
- [17] Franzini VL, Azcón R, Latanze-Mendes F, Aroca R. (2010) Interaction between *Glomus* species and *Rhizobium* strains affect the nutritional physiology of drought stressed legume hosts. *J Plant Physiol* 167: 614-619.
- [18] Lafuente A, Pajuelo E, Caviades MA, Rodriguez-Llorente ID. (2010) Reduced nodulation in alfalfa induced by arsenic correlates with altered expression of early nodulins. *J. Plant Physiol.* 167(4):286-91.
- [19] Arunakumara KKIU, Walpola BC, Yoon M-H. (2013) Aluminum toxicity and tolerance mechanism in cereals and legumes - a review. *J Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 56: 1-9
- [20] Hall JL (2002) Cellular mechanisms for heavy metal detoxication and tolerance. *J. Exp. Bot.* 53: 1–11.
- [21] Krzesłowska M. (2011) The wall cell in plant cell response to trace metals: Polysaccharide remodelling and its role in defense strategy. *Acta Physiol. Plant.* 33:35–51.

- [22] Le Gall H, Philippe F, Domon JM, Gillet F, Pelloux J, Rayon C. (2015) Cell wall metabolism in response to abiotic stress. *Plants* 4:112–166.
- [23] Hossain MA, Piyatida P, Teixeira de Silva JA, Fujita M (2012) Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. *J. Bot.* doi: 10.1155/2012/872875
- [24] Yang J-L, Fan W, Zheng S-J (2019) Mechanisms and regulation of aluminum-induced secretion of organic acid anions from plant roots. *J Zhejiang Univ Sci B*. 20: 513-527.
- [25] Rae AL, Bonfante-Fasolo P, Brewin NJ (1992) Structure and growth of infection threads in the legume symbiosis with *Rhizobium leguminosarum*. *Plant J.* 2: 385–395
- [26] Gianinaui-Pearson V., Gollotte A, Lherminier J., Tisserant B., Franken P, Dumas-Gaudot E, Lemoine MC, van Tuinen D, Gianinazzi S. (1995) Cellular and molecular approaches in the characterization of symbiotic events in functional arbuscular mycorrhizal associations. *Can. J. Bot.* 73: S5264532.
- [27] Horst WJ, Wang YX, Eticha D. (2010). The role of root apoplast in aluminum induced inhibition of root elongation and aluminum resistance of plants: a review. *Ann Bot* 106, 185–97
- [28] Cosgrove DJ. (2005) Growth of the plant cell wall. *Nat Rev Mol Cell Biol*6:850–861
- [29] Tabuchi A, i Matsumoto H. (2001) Changes in cell-wall properties of wheat (*Triticum aestivum*) roots during aluminum-induced growth inhibition. *Physiol Plant*112:353–358
- [30] Rui Y, i Dinneny JR. (2020) A wall with integrity: surveillance and maintenance of the plant cell wall under stress. *New Phytol.* 225:1428-1439
- [31] Grzegorzewska W, Jaworski K, Szmidi-Jaworska A (2009) Rola tlenku azotu w odpowiedzi roślin na stres abiotyczny. *Postępy Biologii Komórki* 36:663-678
- [32] Gill SS i Tuteja N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem.* 48:909-30.
- [33] Mittler R. (2017) ROS are good. *Trends Plant Sci.* 22:11–19.
- [34] Ortega A, Garrido I, Casimiro I, Espinosa F. (2017) Effects of antimony on redox activities and antioxidant defense systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *PLoS One.* 12 (9), e0183991.
- [35] Yadav S. (2010) Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelators in heavy metal stress tolerance of plants. *South Afr. J. Bot.* 76:167–179.
- [36] Foyer CH, i Shigeoka S. (2011) Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant Physiol.* 155:93–100.
- [37] Michalak A. (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish J. Environ. Stud.* 15: 523–530.
- [38] Barceló J, i Poschenrieder C. (2002) Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. *Environ Exp. Bot.* 48:75-92.
- [39] Ma JF, Shen RF, Nagao S, Tanimoto E. (2004) Aluminum targets elongating cells by reducing cell wall extensibility in wheat roots. *Plant Cell Physiol.* 45:583–589
- [40] Zheng SJ, Yang JL (2005) Target sites of aluminum phytotoxicity. *Biol Plant.* 49:321–331
- [41] Budíková S, Čiamporová M, Ovečka M, Polónyi J (1997) Structural characterization of maize root tip cells under aluminium stress. *Acta Fac Rer Nat Univ Com Physiol Plant.* 29:47–52
- [42] Teraoka T, Kaneko M, Mori S, Yoshimura E (2002) Aluminum rapidly inhibits cellulose synthesis in roots of barley and wheat seedlings. *J Plant Physiol.* 159:17–23
- [43] Matsumoto H, i Motoda H. (2012) Aluminum toxicity recovery processes in root apices; possible association with oxidative stress. *Plant Sci.* 186:1-8.
- [44] Čiamporová M (2000) Diverse responses of root cell structure to aluminum stress. *Plant Soil* 226:113-6.
- [45] Błaszczowski J. (2012) Glomeromycota. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków
- [46] Stöhr C, i Stremlau S (2006) Formation and possible roles of nitric oxide in plant roots. *J Exp Bot.* 57: 463-470.
- [47] Bonfante P, i Genre A (2010) Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nat Commun.* 1:48-58.
- [48] Brewin NJ. (2004) Plant cell wall remodelling in the *Rhizobium*-legume symbiosis. *Crit. Rev. Plant Sci.* 23: 293–316.

- [49] Rathbun EA, Naldrett MJ, Brewin NJ. (2002) Identification of a family of extension-like glycoproteins in the lumen of *Rhizobium*-induced infection threads in pea root nodules. *Mol Plant-Microbe Interact.* 15: 350-359.
- [50] Balestrini R, i Bonfante P. (2005). The interface compartment in arbuscular mycorrhizae: a special type of plant cell wall ? *Plant Biosyst.* 139: 8-15.
- [51] Corpas FJ, i Barroso JB. (2015) Functions of nitric oxide (NO) in roots during development and under adverse stress conditions. *Plants.* 4(2): 240-252
- [52] Książek J., Staniak M., Bojarszczuk J. (2009) The regional differentiation of legumes cropping area in Poland between 2001 and 2007. *Polish J. Agron.* 1:25-31.
- [53] Bano SA, i Ashfaq D. (2013) Role of mycorrhiza to reduce heavy metal stress. *Nat Sci.* 5: 16-20.
- [54] Püschel D, Janoušková M, Voříšková A, Gryndlerová H, Vosátka M, Jansa J. (2017) Arbuscular mycorrhiza stimulates biological nitrogen fixation in two *Medicago* spp. through improved phosphorus acquisition. *Front Plant Sci.* 8:390.
- [55] Fester T, i Hause G. (2005) Accumulation of reactive oxygen species in arbuscular mycorrhizal roots. *Mycorrhiza.* 15: 373-379.
- [56] Becana M., Dalton DA., Moran JF., Iturbe-Ormaetxe I, Matamoros MA., Rubio MC. (2000) Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules. *Physiol Plant.* 109:372-381.

6. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

6.1. Wykaz pozostałych publikacji wraz z danymi bibliometrycznymi

1.	Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, 2006. Localization of acid phosphatase activity in the apoplast of pea (<i>Pisum sativum</i> L.) root nodules grown under phosphorus deficiency. <i>Acta Physiologiae Plantarum</i> 28: 263-271. [MNI _{SW} * = 10pkt; IF* = 0.528; Liczba cytowań** = 3]
2.	Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, 2006. Localization of acid phosphatase activity in the apoplast of root nodules of pea (<i>Pisum sativum</i>). <i>Acta Societatis Botanicorum Poloniae</i> 75:33-38. [MNI _{SW} = 10pkt; IF = 0.418; Liczba cytowań = 1]
3.	Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, 2007. Localization of expansin-like protein in apoplast of pea (<i>Pisum sativum</i> L.) root nodules during interaction with <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i> 248. <i>Acta Societatis Botanicorum Poloniae</i> 76:17-26. [MNI _{SW} = 10 pkt; IF = 0.418; Liczba cytowań = 8]
4.	Borucki W, Sujkowska M, 2008. The effects of sodium chloride-salinity upon growth, nodulation, and root nodule structure of pea (<i>Pisum sativum</i> L.) plants. <i>Acta Physiologiae Plantarum</i> 30:293-301. [MNI _{SW} = 10 pkt; IF = 0.81; Liczba cytowań = 22]
5.	Sujkowska M, 2009. Przebieg procesu infekcji w układzie symbiotycznym rośliny motylkowate- <i>Rhizobium</i> . <i>Wiadomości Botaniczne</i> 53:35-53. [Lista B MNI _{SW} = 5 pkt]

6.	Sujkowska M, Górski-Czekaj M, Bederska M, Borucki W, 2011. Vacuolar organization in the nodule parenchyma is important for the functioning of pea root nodules. <i>Symbiosis</i> 54: 1-16. [MNIŚW = 20 pkt; IF=1.214; Liczba cytowań = 7]
7.	Borucki W, Bederska M, Sujkowska-Rybkowska M, 2015. Visualisation of plastid outgrowths in potato (<i>Solanum tuberosum</i> L.) tubers by carboxyfluorescein diacetate staining. <i>Plant Cell Reports</i> 34:853-860. [MNIŚW = 35 pkt.; IF = 3.071; Liczba cytowań = 4]
8.	Witoń D, Gawroński P, Czarnocka W, Ślesak I, Rusaczonek A, Sujkowska-Rybkowska M, Bernacki MJ, Dąbrowska-Bronk J, Tomsia N, Szechyńska-Hebda M, Karpiński S, 2016. Mitogen Activated Protein Kinase 4 (MPK4) influences growth in <i>Populus tremula</i> L. x <i>tremuloides</i> . <i>Environmental and Experimental Botany</i> 130:189-205. [MNIŚW = 40 pkt; IF = 3.712; Liczba cytowań = 7]
9.	Sujkowska-Rybkowska M, Ważny R, 2018. Metal resistant rhizobia and ultrastructure of <i>Anthyllis vulneraria</i> nodules from zinc and lead contaminated tailing in Poland. <i>International Journal of Phytoremediation</i> 20:709-720. [MNIŚW = 25 pkt; IF = 2.237; Liczba cytowań = 5]
10.	Sujkowska-Rybkowska M, Banasiewicz J, Rekosz-Burlaga H, Stępkowski T, 2020. <i>Anthyllis vulneraria</i> and <i>Lotus corniculatus</i> on calamine heaps form nodules with <i>Bradyrhizobium liaoningense</i> -related strains harboring novel in Europe symbiotic nifD haplotypes. <i>Applied Soil Ecology</i> 151:103539. [MNIŚW = 140 pkt; IF = 3.445; Liczba cytowań = 2]
11.	Sujkowska-Rybkowska M, Kasowska D., Gediga K, Banasiewicz J., Stępkowski T, 2020. <i>Lotus corniculatus</i> - rhizobia symbiosis under Ni, Co and Cr stress on ultramafic soil. <i>Plant and Soil</i> 451: 459-484. [MNIŚW = 140 pkt; IF = 3.259; Liczba cytowań = 0]
12.	Sujkowska-Rybkowska M, Muszyńska E, Labudda M, 2020. Structural adaptation and physiological mechanisms in the leaves of <i>Anthyllis vulneraria</i> L. from metalicolous and non-metallicolous populations. <i>Plants</i> 9:662. [MNIŚW = 70 pkt; IF = 2.762; Liczba cytowań = 0]
13.	Czarnocka W, Rusaczonek A, Willems P, Sujkowska-Rybkowska M, Van Breusegem F, Karpiński S, 2020. Novel role of JAC1 in influencing photosynthesis, stomatal conductance and photooxidative stress signalling pathway in <i>Arabidopsis thaliana</i> . <i>Frontiers in Plant Science</i> . doi.org/10.3389/fpls.2020.01124 [MNIŚW = 100 pkt; IF = 4.106; Liczba cytowań = 0]
14.	Rusaczonek A, Czarnocka W, Willems P, Sujkowska-Rybkowska M, Van Breusegem F, Karpiński S, 2020. Phototropin 1 and 2 influence photosynthesis, UV-C induced photooxidative stress responses and cell death. <i>Frontiers in Plant Science</i> (w druku) [MNIŚW = 100 pkt; IF = 4.106; Liczba cytowań = 0]

* Uwzględniono punktację czasopism oraz współczynnik wpływu (IF) z roku publikacji artykułów

** Liczba cytowań (z autocytowaniami), wg Web of Science Core Collection, na dzień 14.09.2020r.

6.2. Obszary zainteresowań naukowych przed uzyskaniem stopnia doktora

Pracę naukową rozpoczęłam w Katedrze Botaniki Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie w zespole kierowanym przez prof. dr hab. Władysława Golinowskiego w roku 1996 jako studentka IV roku kierunku Rolnictwo na Wydziale Rolniczym SGGW. Wykonywałam wtedy badania do pracy magisterskiej zatytułowanej „Wpływ zasolenia podłoża chlorkiem sodu na strukturę brodawek korzeniowych grochu”, którą obroniłam z wyróżnieniem w 2001 roku. Wykonane przeze mnie badania oparte były na technikach mikroskopowych, a uzyskane wyniki zostały także włączone do artykułu Borucki W., Sujkowska M. (2008) *The effects of sodium chloride-salinity upon growth, nodulation, and root nodule structure of pea (*Pisum sativum* L.) plants*, który został opublikowany w czasopiśmie *Acta Physiologiae Plantarum* (IF = 0,81). W tej pracy wykazałam, że zasolenie gleby zmniejsza tempo wzrostu roślin. Niskie dawki chlorku sodu stymulowały brodawkowanie, ale hamowały ich wzrost i rozmiary. Zasolenie powodowało zmiany strukturalne brodawek, indukowało rozrastanie się nici infekcyjnych oraz akumulację białek przeciwdziałających niekorzystnym efektom stresu solnego na terenie wakuol. Zagadnienie to wpisywało się w wieloletnią problematykę badawczą Katedry Botaniki, która dotyczyła wielopłaszczyznowych badań różnych aspektów interakcji roślin z mikroorganizmami.

Po uzyskaniu tytułu magistra kontynuowałam pracę badawczą w zespole prof. dr hab. Władysława Golinowskiego, najpierw jako uczestnik studiów doktoranckich (2001-2006r.), potem (2006-2013r.) jako asystent, a następnie (od 1.10.2013r.) jako adiunkt w Katedrze Botaniki Wydziału Rolnictwa i Biologii SGGW. Od czasu zatrudnienia w Katedrze Botaniki moje zainteresowania badawcze skupiały się wokół zagadnień związanych z symbiozą roślin bobowatych z ryzobiami. Badania wykonane w latach 2001-2006 złożyły się na moją pracę doktorską zatytułowaną „*Charakterystyka apoplastu efektywnych i nieefektywnych brodawek korzeniowych grochu*”, która została obroniona z wyróżnieniem 26 października 2006 roku. Praca dotyczyła wyznaczenia nowych komponentów apoplastu uczestniczących w przebiegu procesu tworzenia brodawek. W pracy wykazałam, że prawidłowy przebieg infekcji i rozwój efektywnej brodawki korzeniowej związany jest z aktywnością białek apoplastowych, między innymi kwaśnych fosfataz i ekspansyn. Opisane badania finansowane były, m.in. z grantu promotorskiego pt. „Lokalizacja ekspansyn w efektywnych i nieefektywnych brodawkach korzeniowych grochu (*Pisum sativum*)”, finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji” (nr 2PO6A 006 28) kierowanego przez prof. dr hab. Władysława Golinowskiego, w którym byłam jedynym wykonawcą. Wyniki wykonanych w ramach doktoratu badań opisałam w publikacjach:

- Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, 2006. Localization of acid phosphatase activity in the apoplast of root nodules of pea (*Pisum sativum*). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 75:33-38. IF = 0,418.
- Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, 2006. Localization of acid phosphatase activity in the apoplast of pea (*Pisum sativum* L.) root nodules grown under phosphorus deficiency. *Acta Physiologiae Plantarum* 28:263-271. IF = 0,528.
- Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, 2007. Localization of expansin-like protein in apoplast of pea (*Pisum sativum* L.) root nodules during interaction with *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 248. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 76:17-26. IF = 0,418.

Publikacje te zostały nagrodzone nagrodą indywidualną III^o Rektora SGGW (Warszawa 2008). Wyniki badań były również prezentowane na 2 krajowych i 2 międzynarodowych konferencyjnych naukowych.

6.3. Obszary zainteresowań naukowych po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk rolniczych napisałam artykuł przeglądowy dotyczący przebiegu procesu infekcji w symbiozie z bakteriami *Rhizobium*. Proces infekcji rośliny poprzedzający indukcję rozwoju brodawki korzeniowej jest etapem niezmiernie istotnym i wielce złożonym. Ponadto zagadnienia wzrostu, rozwoju i struktury nici infekcyjnych, które są kluczowe dla procesu infekcji i indukcji rozwoju brodawek korzeniowych, są jednocześnie najslabiej poznane. Wynikiem tych zainteresowań był artykuł Sujkowska M, 2009. *Przebieg procesu infekcji w układzie symbiotycznym rośliny motylkowate-Rhizobium*, który został opublikowany w czasopiśmie Wiadomości Botaniczne.

Poza tematyką przedstawioną w *Osiągnięciu naukowym*, moje główne zainteresowania badawcze dotyczą obecnie badań terenowych i są związane z zagadnieniami strukturalnych i metabolicznych adaptacji roślin bobowatych do zasiedlania terenów ekstremalnie zanieczyszczonych wysokimi stężeniami metali, takich jak hałdy galmanowe oraz serpentynitowe na południu Polski. Swoimi badaniami objęłam również endosymbionty tych roślin umożliwiające im przetrwanie w środowisku silnie skażonym metalami. Moje zainteresowania problematyką zanieczyszczenia środowiska metalami śladowymi i możliwościami wykorzystania w przyszłości roślin bobowatych i ich symbiontów w rolnictwie oraz procesach oczyszczania terenów skażonych metalami śladowymi, zapoczątkowały współpracę naukową z prof. dr Jaco Vangronsveld'em z Hasselt University w Belgii, prof. dr hab. Katarzyną Turnau z Małopolskiego Centrum Biotechnologii (MCB) w Krakowie, dr hab. Tomaszem Stępkowskim z SGGW oraz prof. dr hab. Lidią Sas-Paszt z Instytutu Ogródnictwa w Skierniewicach. W ramach współpracy z prof. dr hab. Lidią Sas-Paszt odbyłam również 5-miesięczny staż naukowy w Instytucie Ogródnictwa (1.10.2018-1.03.2019r.). Badania te dotyczyły następujących problemów badawczych:

Adaptacje roślin bobowatych, spontanicznie kolonizujących hałdy galmanowe i serpentynitowe, do wzrostu w środowisku zawierającym ekstremalnie wysokie stężenia metali toksycznych

Metale śladowe są jednym z najniebezpieczniejszych zanieczyszczeń antropogenicznych, nie tylko ze względu na swą toksyczność, ale również z uwagi na to, że nie podlegają biodegradacji i jednocześnie akumulują się w środowisku. Pierwiastki te są gromadzone, przede wszystkim, w wierzchnich warstwach glebowych, skąd poprzez rośliny łatwo trafiają do łańcucha troficznego, wywołując procesy muta- i kancerogenezy w organizmach żywych. Tematyka moich najnowszych badań dotyczy mechanizmów adaptacyjnych wybranych gatunków roślin bobowatych porastających hałdy metalonośne na południu Polski. Południowa Polska jest najbardziej uprzemysłowionym regionem kraju. Okolice Bytomia, Olkusza i Chrzanowa obfitują w rudy cynku i ołowiu, natomiast okolice Wrocławia to tereny występowania serpentynitów. Odpady przemysłowe, bogate w metale toksyczne, poddawane są erozji wietrznej i wodnej, a tym samym stanowią zagrożenie dla środowiska i zdrowia ludzi. Odpady te są trudnym siedliskiem dla wzrostu roślin, zawierają bowiem znaczne ilości metali toksycznych takich jak: Pb, Zn i Cd-galmany oraz Ni, Co i Cr-serpentynity. Rośliny

bobowate tworzące symbiozę z wiążącymi azot cząsteczkowy ryzobiami i grzybami mikoryzowymi mogą pełnić na tych terenach ważną rolę jako źródło składników odżywczych, jako że odpady te są ubogie zwłaszcza w azot i fosfor. Należy podkreślić, że rośliny bobowate wykazują odporność na cynk, jednakże hałdy te zawierają również inne metale, które mogą oddziaływać niekorzystnie zarówno na rośliny, jak i ich symbionty. Wśród gatunków roślin, które są stosunkowo skuteczne w naturalnej sukcesji tych terenów są *Anthyllis vulneraria* (przelot pospolity) oraz *Lotus corniculatus* (komonica zwyczajna). Właśnie te dwa gatunki roślin wybrałam obecnie do swoich **najnowszych badań** ze względu na fakt, że występują one na różnych hałdach metalonośnych, co wskazuje na ich duży potencjał adaptacyjny. W badaniach oznaczyłam zawartości wybranych metali śladowych w podłożach hałdowych oraz ich przemieszczanie do roślin. Ustaliłam, że hałda galmanowa „Bolesław” jest zanieczyszczona w znacznym stopniu Zn ($42.000 \text{ mg kg}^{-1}$), Cd (180 mg kg^{-1}) i Pb (2.200 mg kg^{-1} gleby). Hałda serpentynitowa „Szklary” powstała z odpadów po wydobywaniu rud niklu zawierała toksyczne ilości Ni (1.700 mg kg^{-1}), Cr (355 mg kg^{-1}) i Co (228 mg kg^{-1} gleby). Wykazałam, że adaptacja roślin *A. vulneraria* i *L. corniculatus* do wzrostu na odpadach zawierających ekstremalnie wysokie stężenia metali wynika z wykształcenia w nich strategii unikania i zahamowania translokacji metali do części nadziemnych („metal excluders”). Świadczyły o tym bardzo niskie współczynniki bioakumulacji metali w roślinach i akumulacja metali głównie w korzeniach z brodawkami korzeniowymi oraz niski poziom przemieszczania metali do pędu, co wskazuje, że rośliny te nie stanowią istotnego źródła przenikania metali do łańcucha pokarmowego, dlatego mogą być użyteczne w rekultywacji terenów zanieczyszczonych metalami.

W badaniach strategii adaptacji roślin bobowatych porastających hałdy galmanowe porównywałam również liście *A. vulneraria* ekotypu hałdowego z ekotypem rosnącym na terenie nieskażonym metalami (kamieniołom w Kazimierzu Dolnym). W badaniach wykazałam, że ekotyp hałdowy wytwarza liście cieńsze i mniejsze w porównaniu z ekotypem kontrolnym. Metale śladowe obecne w podłożu powodowały modyfikacje apoplastu liści, szczególnie komórek epidermy i mezofilu, które to zmiany mogły przeciwdziałać wnikaniam metali do cytoplazmy komórek mezofilu powodując spadek wydajności fotosyntezy. Potwierdziły to analizy fizjologiczne oraz analiza mikroskopowa liści ekotypu hałdowego, które wykazały brak dysfunkcji fizjologicznych w komórkach mezofilu liści eksponowanych na metale. Zmiany w apoplaście dotyczyły grubienia ścian komórkowych i zmiany ich składu chemicznego. Grube ściany zawierały duże ilości ksyloglukanów, pektyn, arabinanów, białek arabinogalaktanowych i ekstensyn. Testowane ekotypy różniły się także reakcjami fizjologicznymi. Ekotyp hałdowy charakteryzował się wyższym poziomem akumulacji pigmentów fotosyntetycznych w porównaniu z ekotypem kontrolnym, zwiększoną aktywnością dysmutazy nadrodkowej i zwiększoną zawartością fenoli. Rośliny hałdowe wykazywały również wyższy poziom antyoksydantów, co z pewnością zwiększa odporność roślin *Anthyllis* na obecność wysokich stężeń metali w środowisku.

Zarówno u przelotu pospolitego, jak i komonicy zwyczajnej większość pobranych z podłoża metali akumulowana była przez korzenie oraz brodawki korzeniowe. Analizy mikroskopowe i immunocytochemiczne wykazały, że w brodawkach, zarówno u przelotu, jak i u komonicy, istnieją mechanizmy obronne chroniące je przed toksycznym wpływem metali, związane ze zwiększoną akumulacją fenoli w komórkach tkanek korowych i nierównomiernym grubieniem ich ścian komórkowych (stają się one nawet pięciokrotnie grubsze w porównaniu do kontroli), a w szczególności naroży komórek zainfekowanych z bakteroidami. Zdobyte finansowanie w ramach projektu MINIATURA 3 pozwoliło na szczegółową analizę przebudowy apoplastu brodawek korzeniowych tych roślin. Badania immunocytochemiczne wykorzystujące przeciwciała specyficzne wobec komponentów ścian komórkowych wykazały występowanie w zgrubiałych ścianach komórkowych brodawek

zwiększonych ilości celulozy, hemiceluloz, pektyn, glikoprotein (ekstensyn i białek arabinogalaktanowych) oraz kalozy, których zadaniem jest ochrona komórek zawierających symbiosomy przed napływem szkodliwych jonów metali.

Mikrosymbionty roślin bobowatych z hałd metalonośnych

Oprócz adaptacji strukturalnych i mechanizmów fizjologicznych umożliwiających wzrost roślin na odpadach metalonośnych, należy również wziąć pod uwagę korzystną rolę i funkcje pełnione przez ich symbionty. Niewątpliwie istotnym przystosowaniem *A. vulneraria* i *L. corniculatus* rosnących na hałdach metalonośnych do obecności metali w glebie, jest ich **równoczesna symbioza z ryzobiami i grzybami mikoryzowymi**. Najnowszy kierunek moich eksploracji badawczych dotyczy identyfikacji i charakterystyki naturalnych symbiontów zdolnych do kolonizacji korzeni i brodawek korzeniowych *A. vulneraria* i *L. corniculatus* rosnących na hałdach galmanowych i serpentynitowych. Symbionty te mogą potencjalnie posiadać właściwości promujące wzrost roślin i podnosić tolerancję roślin bobowatych na stres wywołany obecnością metali toksycznych. Jest to kluczowy aspekt zwiększania masy organicznej roślin na glebach zanieczyszczonych metalami. Symbiozy roślin bobowatych dają im przewagę nad innymi roślinami dzięki czemu uznawane są za rośliny pionierskie, kolonizujące gleby marginalne i zanieczyszczone antropogenicznie. Badania z tego zakresu mają ogromne znaczenie zarówno dla rolnictwa jak i nauk o środowisku (dane dotyczące mechanizmów adaptacji roślin występujących na stanowiskach skrajnych pod względem warunków eko-fizjologicznych).

Z brodawek przelotu pospolitego i komonicy zwyczajnej rosnących na hałdzie galmanowej wyizolowałam **nowe dla Polski gatunki ryzobiów** (*Bradyrhizobium liaoningense* oraz *Rhizobium metallidurans*). Co ciekawe, gatunek *R. metallidurans* został dotychczas wyizolowany w Południowej Francji tylko z siedlisk zanieczyszczonych metalami. Oba szczepy tworzą brodawki na korzeniach swoich roślin gospodarzy, które są efektywne w wiązaniu azotu w czasie ich wzrostu na podłożu skażonym metalami. W odniesieniu do odporności/tolerancji na metale śladowe, oba szczepy wykazują podobnie wysoką tolerancję na Pb. *R. metallidurans* posiada wysoką tolerancję na Zn, podczas gdy *B. liaoningense* wykazuje wysoką tolerancję na Cd i Cu. Dla kilkudziesięciu wyselekcjonowanych z brodawek przelotu i komonicy, rosnących na hałdzie galmanowej, izolatów *Bradyrhizobium* wykonano analizę filogenetyczną MLSA (ang. *multilocus sequence analysis*) w oparciu o amplifikację i sekwencjonowanie genów markerowych *16S*, *recA*, *glnII*, *dnaK*, *gyrB*, *rpoB* i *nifD*. Badania wykazały pokrewieństwo szczepów opornych na metale do *B. liaoningense*, gatunku występującego w lekko alkalicznych glebach, w tym w miejscach skażonych metalami śladowymi. Filogeneza genu symbiotycznego *nifD* wykazała podobieństwo badanych szczepów *Bradyrhizobium* sp. do nowego w Europie kladu XVII, obejmującego szczepy pochodzące głównie z obszarów tropikalnych.

Izolacja bakterii z brodawek komonicy zwyczajnej rosnącej na hałdzie serpentynitowej „Szkлары” wykazała, że brodawki zasiedlają **unikalne ryzobia** należące do rodzajów *Rhizobium* i *Mesorhizobium* tolerujące Ni, Co i Cr. Gatunki *R. leguminosarum* bv. *viciae* oraz *M. serpentionale* wiązały efektywnie azot w brodawkach korzeniowych i dodatkowo wykazywały właściwości promujące wzrost roślin na hałdzie. Zastosowanie tych bakterii w testach *in vivo* zwiększyło odporność testowanych roślin komonicy i *Arabidopsis thaliana* na obecność jonów Ni, Co i Cr. Ponadto wydzielane przez te ryzobia auksyny stymulowały wzrost korzeni, formowanie włośników i korzeni bocznych zarówno u komonicy, jak i u *A. thaliana*. Bakterie wykazywały również zdolność udostępniania żelaza roślinom dzięki produkcji sideroforów. Wyniki tych badań wskazują, że wyselekcjonowane izolaty ryzobiów stymulują bezpośrednio wzrost *L. corniculatus* na hałdzie serpentynitowej poprzez dostarczenie roślinie składników mineralnych (azotu, fosforu i żelaza) oraz syntezę

auksyn stymulujących rozwój roślin. Wykorzystanie tych mikroorganizmów w zwiększaniu plonu roślin może stanowić pewną alternatywę dla stosowania nawozów mineralnych, jak i zwiększa odporności roślin na niekorzystne warunki środowiska. Spośród mikroorganizmów glebowych, bytujące w brodawkach korzeniowych ryzobia mają szansę odegrać ogromną rolę w biotechnologii poprzez wspomaganie wzrostu roślin, jako tzw. PGPR (ang. *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*).

Mimo, że tworzenie mikoryzy arbuskularnej, jest zjawiskiem dość częstym u roślin rosnących na terenach zanieczyszczonych metalami, współistnienie jednoczesnej symbiozy z grzybami arbuskularnymi i ryzobiami zaobserwowane u przelotu pospolitego i komonicy zwyczajnej był zaskakujący. Analizy mikroskopowe korzeni z brodawkami korzeniowymi wykazały, że komórki miękiszu kory pierwotnej korzeni z brodawkami są intensywnie zasiedlane przez arbuskularne grzyby mikoryzowe. Fakt ten zainicjował moje kolejne badania dotyczące izolacji i identyfikacji grzybów arbuskularnych kolonizujących korzenie tych roślin. Badania te realizowałam, m.in. w czasie pięciomiesięcznego stażu w laboratorium Ryzosfery Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach. Uzyskane wyniki wykazały dużą bioróżnorodność zarodników grzybów wyizolowanych z podłoży galmanowych i serpentynitowych, jak i wysoką częstotliwość występowania mikoryzy (>90%) w badanych korzeniach *Anthyllis* i *Lotus* rosnących na haldzie galmanowej i serpentynitowej. Wskazuje to jednoznacznie na występowanie wysoce tolerancyjnych szczepów grzybów arbuskularnych, które zwiększają odporność tych roślin na obecne w glebie metale. Postuluje się, że mikoryza wpływa na lepszą kondycję rośliny poprzez jej lepsze odżywianie mineralne. Z drugiej strony mikoryza pełni rolę ograniczającą transport metali do części nadziemnych, pozwalając tym samym roślinom na wzrost oraz sukces reprodukcyjny na terenach metalonośnych. Wstępna identyfikacja grzybów z korzeni roślin *Anthyllis* i *Lotus* z zastosowaniem technik analizy DNA, wykazała, że arbuskularne grzyby mikoryzowe zasiedlające korzenie tych roślin należą do gatunków *Rhizophagus intraradices*, *R. irregularis*, *Funneliformis mosseae*, *Glomus claroideum* i *G. etunicatum*. Uzyskane wyniki wstępne są o tyle ciekawe, że powszechnie uważa się, że wysokie stężenia metali powodują spadek liczby spor oraz spadek bioróżnorodności gatunkowej i zróżnicowania wewnątrzgatunkowego grzybów mikoryzowych. Wyniki te były prezentowane na krajowych konferencjach i są w trakcie publikowania. Badania w ramach tego zagadnienia kontynuuję, a wiedzę i umiejętności badawcze i praktyczne z tego zakresu wykorzystuję również do realizacji specjalistycznych zajęć dydaktycznych.

Wyniki tych badań zostały opisane w następujących publikacjach:

- **Sujkowska-Rybikowska M** i **Ważny R**, 2018. Metal resistant rhizobia and ultrastructure of *Anthyllis vulneraria* nodules from zinc and lead contaminated tailing in Poland. *International Journal of Phytoremediation* 20:709-720.
- **Sujkowska-Rybikowska M**, **Banasiewicz J**, **Rekosz-Burlaga H**, **Stępkowski T**, 2020. *Anthyllis vulneraria* and *Lotus corniculatus* on calamine heaps form nodules with *Bradyrhizobium liaoningense*-related strains harboring novel in Europe symbiotic *nifD* haplotypes. *Applied Soil Ecology* 151:103539.
- **Sujkowska-Rybikowska M**, **Kasowska D**, **Gediga K**, **Banasiewicz J**, **Stępkowski T**, 2020. *Lotus corniculatus* - rhizobia symbiosis under Ni, Co and Cr stress on ultramafic soil. *Plant and Soil*, 451: 459-484.
- **Sujkowska-Rybikowska M**, **Muszyńska E**, **Labudda M** (2020) Structural adaptation and physiological mechanisms in the leaves of *Anthyllis vulneraria* L. from metalicolous and non-metalicolous populations. *Plants*. 9(662):662.

Po uzyskaniu stopnia doktora prowadziłam również badania naukowe dotyczące szeroko rozumianej botaniki strukturalnej opierające się na obrazowaniu nowoczesnymi technikami mikroskopowymi i molekularnymi. Badania te dotyczyły następujących problemów badawczych:

- Strukturalne i biochemiczne właściwości parenchymy brodawki korzeniowej grochu

Tkanki korowe brodawek korzeniowych to przede wszystkim główna mechaniczna bariera dla dyfuzji tlenu hamującego aktywność nitrogenazy, enzymu kluczowego dla wiązania N_2 . Badalam właściwości komórek tkanki korowej brodawki korzeniowej grochu w warunkach kontrolnych i po usunięciu pędu. Obserwacje mikroskopowe, w tym barwienie czerwienią obojętną oraz badania epifluorescencyjne wykazały, że komórki miękiszowe zewnętrznej i wewnętrznej kory brodawki mają różny skład ścian komórkowych i różną organizację systemu wakuolarnego. W warunkach kontrolnych, w przeciwieństwie do kory wewnętrznej (parenchymy), komórki kory zewnętrznej mają obkurczone wakuole a ich ściany komórkowe tworzą fałdy zagłębiające się do wnętrza komórek. Usunięcie pędów indukowało kurczenie się wakuol i tworzenie się fałd ściany komórkowej także w komórkach miękiszowych kory wewnętrznej. Ponadto badania immunocytochemiczne z zastosowaniem przeciwciał poliklonalnych przeciw endo- β -1,4-glukanazie (celulazie), która rozluźnia strukturę ściany, wykazały wysoką akumulację celulaz w ścianach powiększających się komórek kory zewnętrznej. Badania potwierdziły funkcję parenchymy oraz kory zewnętrznej brodawki jako bariery dyfuzyjnej ograniczającej transport tlenu do wnętrza brodawki. Wyniki tych badań opublikowałam w artykule Sujkowska M., Górską-Czekaj M., Bederska M., Borucki W., 2011. Vacuolar organization in the nodule parenchyma is important for the functioning of pea root nodules. *Symbiosis* 54:1-16. IF=1,214.

- Budowa i funkcja stromul w komórkach miększu korkowego bulwy ziemniaka

Stromule to tubularne wyrostki wytwarzane przez różne typy plastydów. Ich funkcja nie jest do końca wyjaśniona, ale najczęściej jest wiązana ze zwiększaniem powierzchni wymiany plastydów z cytoplazmą lub uczestnictwem w transdukcji sygnałów. Stromule charakteryzują się dużą zmiennością kształtów i długości. W badaniach w bulwach ziemniaka (*Solanum tuberosum* L. var. Rosalinde) wykazano występowanie dwóch typów plastydowych wyrostków - stromul i wypustek, uwidoczniionych w transmisyjnym mikroskopie elektronowym i konfokalnym laserowym mikroskopie skanującym przy użyciu barwnika diocetanu karboksylfluoresceiny. Oba typy struktur wykazywały aktywność esteraz. W plastydach komórek miększu korkowego bulw dominowały stromule, podczas gdy wypustki były charakterystyczne dla amyloplastów miększu spichrzowego bulwy ziemniaka. W przeciwieństwie do stromul, wypustki zawierały struktury podobne do tylakoidów. Wyniki badań wykazały, że stromule jako tubularne wyrostki plastydów wypełnione stromą, stanowią swoiste połączenia pomiędzy plastydami. Wypustki z kolei zwiększają powierzchnię amyloplastów, co może poprawiać ich możliwości wychwytywania wolnych cukrów, a następnie ich metabolizowanie do skrobi. Wyniki badań wskazują, że bulwy ziemniaka mogą służyć jako doskonały model do badania wyrostków plastydowych. Wyniki tych badań zostały opublikowane w artykule Borucki W., Bederska M., Sujkowska-Rybkowska M., 2015. Visualisation of plastid outgrowths in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers by carboxyfluorescein diacetate staining. *Plant Cell Reports* 34:853-860. IF = 3,071.

- Rola aktywowanej mitogenami kinazy 4 (MPK4) w rozwoju roślin i w regulacji odpowiedzi na stres

Celem pracy Witoń D., Gawroński P., Czarnocka W., Ślesak I., Rusaczek A., Sujkowska-Rybkowska M., Bernacki M., Dąbrowska-Bronk J., Tomsia N., Szechyńska-Hebda M., Karpiński S., 2016: Mitogen activated protein kinase 4 (MPK4) influences growth in *Populus*

tremula L. x *tremuloides*". Environmental and Experimental Botany 130:189-205 (IF = 3,712), było wykazanie funkcji kinazy 4 aktywowanej mitogenami (MPK4) u topoli. Wygenerowane linie transgeniczne topoli o zmniejszonej ekspresji *MPK4* wykazywały wyższą zawartość kwasu salicylowego (SA), podwyższony poziom reaktywnych form tlenu (RFT) i wyższą aktywność enzymów antyoksydacyjnych w liściach. Co więcej, linie te charakteryzowały się także zwiększoną wydajnością fotosyntetyczną oraz wyższą zawartością chlorofili i karotenoidów. Mimo wysokoefektywnej fotosyntezy drzewa te słabo rosły, co było związane z podwyższonym przewodnictwem szparkowym i wyższą transpiracją, oraz wzrostem intensywności lignifikacji łądź. Uzyskane wyniki wskazały, że MPK4 jest odpowiedzialna za kontrolowanie wydajności fotosyntezy, sygnalizację wsteczną chloroplastów, homeostazę komórkową RFT/SA oraz gospodarkę wodną. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeprowadzeniu analizy mikroskopowej budowy cytologicznej i anatomicznej łądź mutantów topoli *Populus tremula* L. x *tremuloides* ze szczególnym naciskiem na procesy lignifikacji ścian komórkowych.

- Nowa rola JAC1 w fotosyntezie, przewodnictwie szparkowym i stresie fotooksydacyjnym

W pracy Czarnocka W, Rusaczonek A, Willems P, Sujkowska-Rybikowska M, Van Breusegem F, Karpiński S, 2020. Novel role of JAC1 in influencing photosynthesis, stomatal conductance and photooxidative stress signalling pathway in *Arabidopsis thaliana*. Frontiers in Plant Science. doi.org/10.3389/fpls.2020.01124 (IF=4,106) wykazano nową rolę białka JAC1 u *Arabidopsis* w fotosyntezie, wychwycie dwutlenku węgla, a także w reakcji komórek na stres oksydacyjny pod wpływem silnego promieniowania UV-C. Mój wkład, w powstanie tej pracy, polegał na analizie cytochemicznej i mikroskopowej liści *Arabidopsis* pod kątem stresu oksydacyjnego i śmierci komórki.

- Udział fototropin 1 i 2 w fotosyntezie, stresie fotooksydacyjnym i śmierci komórki

W pracy Rusaczonek A, Czarnocka W, Willems P, Sujkowska-Rybikowska M, Van Breusegem F, Karpiński S, 2020. Phototropin 1 and 2 influence photosynthesis, UV-C induced photooxidative stress responses and cell death. Frontiers in Plant Science (w druku, IF = 4,106) wykazano nową rolę fotoreceptorów (fototropin) w fotosyntezie, a także w reakcji komórek na stres oksydacyjny i śmierć komórki pod wpływem silnego promieniowania UV-C u roślin typu dzikiego i mutantów *Arabidopsis*. Mój wkład, w powstanie tej pracy, polegał na analizie cytochemicznej i mikroskopowej liści *Arabidopsis* pod kątem stresu oksydacyjnego i śmierci komórki.

Równocześnie z prowadzonymi swoimi badaniami uczestniczyłam, jako ekspert w badaniach opartych głównie o analizy mikroskopowe, a dotyczących: (1) ultrastruktury brodawek korzeniowych koniczyny białej z hałdy galmanowej (współpraca z dr Ewą Oleńską z Uniwersytetu w Białymstoku), (2) somatycznych zarodków paproci (współpraca z prof. dr hab. Anną Mikułą z Ogrodu Botanicznego PAN w Powsinie); (3) chloroplastów i aparatów szparkowych liści i liścieni *Arabidopsis* (współpraca z prof. dr Stanisławem Karpińskim z Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin z SGGW, prof. dr hab. Ireneuszem Ślesakiem oraz dr hab. Beatą Myśliwą-Kurdziej z Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, dr hab. Katarzyną Kowalczyk z Wydziału Ogrodniczego z SGGW); (4) chloroplastów u *Mesembryanthemum crystallinum* (współpraca z dr Michałem Noskiem z Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie), (5) mikoryzy u *M. truncatula* (współpraca z prof. dr hab. Michałem Jasińskim z Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN); (6) budowy ścian komórkowych drożdży (współpraca z dr hab. Anną Bzducha-Wróbel z Wydziału Nauk o

Zywności z SGGW); (7) włączania nieorganicznych nanostruktur do roślin (współpraca z Marią Lewandowską z Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin z SGGW), (8) badania dotyczące odpowiedzi roślin na czynniki środowiskowe takie jak oświetlenie LED, zasolenie, czy hypoksja. Wstępne wyniki tych badań prezentowane były na konferencjach krajowych i zagranicznych, a część wyników jest w trakcie publikowania.

7. DALSZE PERSPEKTYWY BADAWCZE

W przyszłości zamierzam kontynuować badania interdyscyplinarne dotyczące roślin bobowatych oraz ich symbiontów naturalnie występujących na hałdach oraz mechanizmów istotnych dla ich przystosowań do wysokich zawartości metali w podłożu. Będę starała się wyjaśnić, czy istnieją podobne mechanizmy tolerancji metali pomiędzy różnymi ekotypami hałdowymi tego samego gatunku roślin. Planuję również poszerzyć swoje zainteresowania badawcze o alternatywne mechanizmy tolerancji i detoksykacji metali u roślin, takie jak odpowiedź antyoksydacyjna, sekwestracja w wakuoli, egzosekrecja czy kompleksowanie w cytozolu komórek korzeni, brodawek korzeniowych i liści z wykorzystaniem nowoczesnych metod określania wewnątrzkomórkowej lokalizacji metali. Chciałabym również kontynuować zarówno naukowy, jak i aplikacyjny wątek prowadzonych badań. Równoczesna inokulacja symbiontami AMF i ryzobiami powoduje wzrost biomasy i lepsze wiązanie N_2 i P przez rośliny, choć efekty te zależą od specyficznej kombinacji symbiontów. Nie badano dotychczas wpływu jednoczesnej inokulacji roślin bobowatych różnymi symbiontami, które mogą promować wzrost lub zwiększać tolerancję roślin na metale. Planuję zatem rozwinąć swoje badania o zagadnienie ko-inokulacji roślin bobowatych spontanicznie kolonizujących odpady metalonośne ich naturalnymi symbiontami, aby wykazać których obecność jest bardziej znacząca i pomocna roślinom w przetrwaniu w obecności wysokich stężeń metali. Chciałabym rozwinąć nurt badań dotyczących genomiki ryzobiów występujących na hałdach i ich populacji. Jednocześnie, wspólnie z pracownikami z Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach, planuję kontynuowanie badań dotyczących biologii grzybów arbuskularnych i testowania bionawozów zawierających zarówno ryzobia, jak i grzyby skuteczne w bioremediacji terenów zanieczyszczonych metalami i ewentualnie doprowadzić do komercjalizacji wyników tych badań.

8. PODSUMOWANIE LICZBOWE DOROBKU NAUKOWO-BADAWCZEGO

8.1. Podsumowanie danych bibliometrycznych całościowego punktowanego dorobku naukowego

Mój całkowity dorobek naukowy obejmuje 1 artykuł przeglądowy z listy B MNiSW oraz 20 oryginalnych prac eksperymentalnych opublikowanych w czasopismach z bazy JCR ujętych na liście A MNiSW.

- Łączny IF, zgodny z rokiem opublikowania, wynosi 46,102, a na sumaryczny IF czasopism, w których opublikowano artykuły wchodzące w skład *Osiągnięcia naukowego*, które jest podstawą wniosku habilitacyjnego wynosi 16,016.

- Sumaryczna liczba punktów, wg wykazu czasopism MNiSW, wynosi 925 punktów, z czego 210 punktów przypada na *Osiągnięcie naukowe*, które jest podstawą wniosku habilitacyjnego.
- Sumaryczna liczba cytowań moich prac, wg bazy Web of Science Core Collection wynosi 97 (bez autocytowań 65). Są to dane z 14.09.2020r.
- Index Hirscha, wg bazy Web of Science Core Collection wynosi 7, a zgodnie z bazą Scopus wskaźnik ten wynosi 8.

9. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ

Dorobek dydaktyczny

Od 2001r. prowadzę zajęcia dydaktyczne (wykłady i ćwiczenia) ze studentami studiów stacjonarnych i niestacjonarnych, I i II stopnia na 2 Wydziałach Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Szczegółowe informacje na ten temat znajdują się w tabeli poniżej. Przedstawiony wykaz przedmiotów wskazuje na rozległy zakres nauczanych przeze mnie treści dydaktycznych. Opracowałam programy zajęć dla przedmiotów: „Symbiozy roślin i mikroorganizmów” (przedmiot obowiązkowy dla studentów 2 stopnia kierunku Biologia), „Biologia zapylania”, „Survival roślin”, które mają charakter autorski. Moja oferta dydaktyczna w tym zakresie jest doceniana przez studentów, którzy licznie zapisują się na prowadzone przez mnie przedmioty fakultatywne.

Tabela: Wykaz prowadzonych zajęć dydaktycznych na studiach I i II stopnia

Przedmiot	Stopień studiów	Kierunek	Wydział
Zajęcia dydaktyczne realizowane na SGGW w Warszawie			
Botanika (ćwiczenia)	I	Rolnictwo, Biologia, Inżynieria Ekologiczna	Wydział Rolnictwa i Biologii
Systematyka roślin (ćwiczenia)	I	Rolnictwo, Biologia, Inżynieria Ekologiczna	Wydział Rolnictwa i Biologii
Symbiozy roślin i mikroorganizmów (ćwiczenia + wykład)	II	Biologia	Wydział Rolnictwa i Biologii
Biologia komórki (ćwiczenia)	II	Biotechnologia	Wydziału Ogrodnictwa i Biotechnologii
Botanika (ćwiczenia)	I	Biotechnologia	Wydziału Ogrodnictwa i Biotechnologii
Biologia komórki roślinnej (ćwiczenia)	I	Biologia	Wydział Rolnictwa i Biologii
Survival roślin (wykład)	II	Biologia	Wydział Rolnictwa i Biologii
Biologia oddziaływań roślin-mikroorganizm (wykład)	I	Biotechnologia	Wydziału Ogrodnictwa i Biotechnologii
Biologia oddziaływań roślin-patogen (wykład)	I	Biologia	Wydział Rolnictwa i Biologii
Ogrody botaniczne i	I	Biologia	Wydział Rolnictwa i Biologii

zoologiczne (ćwiczenia + wykład)			
Basics of microscopy (ćwiczenia; zajęcia realizowane w języku angielskim)	I	Organic Agriculture and Food Production	Wydział Rolnictwa i Biologii

Opieka naukowa nad studentami

- Promotorstwo 2 prac magisterskich realizowanych na Wydziale Rolnictwa i Biologii SGGW.
- Promotorstwo 2 prac inżynierskich realizowanych na Wydziale Rolnictwa i Biologii SGGW oraz 2 prac inżynierskich studentów kierunku Biotechnologia Wydziału Ogródnictwa i Biotechnologii realizowanych w Instytucie Biologii SGGW.
- Promotorstwo 3 prac licencjackich realizowanych na Wydziale Rolnictwa i Biologii, i 4 prac licencjackich realizowanych w Instytucie Biologii SGGW.
- Opiekun praktyk studenckich (3) realizowanych w Instytucie Biologii, SGGW.
- Kilukrotnie Opiekun I roku kierunków Inżynieria ekologiczna i Biologia, Wydziału Rolnictwa i Biologii, SGGW.

Dorobek organizacyjny i popularyzatorski

- Członek Wydziałowej Komisji ds. Hospitacji, SGGW w Warszawie - 2016 - 2018 r
- Członek Komisji Egzaminacyjnej z Praktyk Zawodowych studentów z kierunku Biologia SGGW – od 2012r
- Członek Głównej Komisji Rewizyjnej Polskiego Towarzystwa Botanicznego (PTB) - 2016-2019r
- Członek Komisji Rewizyjnej Warszawskiego Oddziału PTB - od 2019 r
- Prowadzenie cyklu zajęć dla przedszkolaków w Przedszkolu Publicznym w Międzyborowie pt. „Niesamowity świat roślin” w 2017r.
- Przewodnik wycieczek w Ogrodzie Botanicznym PAN w Powsinie w latach 2004-2006.

W Tabeli poniżej przedstawiłam liczbowy wykaz niepunktowanych osiągnięć dorobku naukowego, które uważam za najistotniejsze spośród wskazanych w **Załączniku 5**. Wyniki moich badań zostały przedstawione w 32 komunikatach prezentowanych na konferencjach krajowych i międzynarodowych i opublikowanych w materiałach pokonferencyjnych oraz w raportach końcowym z realizacji projektów badawczych. Recenzowałam ponad 20 artykułów naukowych dla czasopism zagranicznych z bazy JCR (posiadam potwierdzenia dla 19 z nich od 2015r). Przed i po uzyskaniu stopnia doktora otrzymałam 2 nagrody i 2 wyróżnienia JM Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie za osiągnięcia naukowe.

Tabela. Zestawienie liczbowe niepuktowanego dorobku (wybrane)

Kategoria	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem
	Liczba		
Opublikowane materiały konferencyjne (postery , referaty)	4	28	32
Ekspertyzy	0	2	2
Kierowanie projektami i zadaniami badawczymi oraz udział w takich projektach	0	3	3
Sprawozdania z realizacji projektów i zadań badawczych	0	2	2
Recenzje manuskryptów publikacji dla zagranicznych czasopism naukowych (rejestrwane od 2015r)	0	19	19
Nagrody i wyróżnienia za działalność naukową	1	4	5
Staż naukowe i zawodowe	1	1	2
Członkostwo w Komisjach Wydziałowych i Towarzystwach Naukowych	0	2	2

Marzena Sujkowska-Rybikowska
(podpis wnioskodawcy)

**Wykaz osiągnięć naukowych stanowiących znaczny
wkład w rozwój określonej dyscypliny**

Dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Instytut Biologii
Katedra Botaniki

Warszawa, 2020

I. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY

1) Tytuł osiągnięcia naukowego:

„Rearanżacja apoplastu w symbiozach korzeniowych wybranych gatunków roślin bobowatych w odpowiedzi na stres glinowy”

2) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego z bazy Journal Citation Reports (JRC)

P1.	Sujkowska-Rybewska M, Borucki W, Znojek E, 2012. Structural changes in <i>Medicago truncatula</i> root nodules caused by short-term aluminum stress. Symbiosis. 58:161-170		
	<i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki i przeprowadzeniu badań laboratoryjnych i mikroskopowych analiz, opracowaniu wyników, sporządzeniu manuskryptu i wykonaniu korekty pracy po recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 90%.</i>		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₂	IF ₂₀₁₂	Liczba cytowań
	20	1,214	8
P2.	Sujkowska-Rybewska M, 2012. Reactive oxygen species production and antioxidative defense in pea (<i>Pisum sativum</i> L.) root nodules after short-term aluminum treatment. Acta Physiologia Plantarum. 34:1387-1400		
	<i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń oraz wykonaniu analiz. Byłam odpowiedzialna za opracowanie i interpretację uzyskanych wyników oraz, jako autor korespondujący, przygotowanie manuskryptu oraz odpowiedzi na recenzje i ostateczną redakcję manuskryptu po recenzjach. Mój udział procentowy wynosi 100%.</i>		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₂	IF ₂₀₁₂	Liczba cytowań
	25	1,639	6
P3.	Sujkowska-Rybewska M., Borucki W., 2014. Localization of hydrogen peroxide accumulation and diamine oxidase activity in pea root nodules under aluminum stress. Micron. 57:13-22		
	<i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń i opracowaniu metodyki większości oznaczeń, prowadzeniu prac doświadczalnych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, prowadzeniu korespondencji z redaktorami czasopism (autor korespondujący), dokonaniu korekty manuskryptów z uwzględnieniem uwag recenzentów. Mój udział procentowy w pracy szacuję na 90%.</i>		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₄	IF ₂₀₁₄	Liczba cytowań
	30	2,062	6

P4.	Sujkowska-Rybkowska M., Borucki W., 2014. Accumulation and localization of extensin protein in apoplast of pea root nodule under aluminum stress. <i>Micron</i> . 67:10-19		
	<i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń i opracowaniu metodyki większości oznaczeń, zdobyciu finansowania na zakup przeciwciał, prowadzeniu prac doświadczalnych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, prowadzeniu korespondencji z redaktorami czasopism (autor korespondujący), dokonaniu korekty manuskryptów z uwzględnieniem uwag recenzentów. Mój udział procentowy w pracy szacuję na 90%.</i>		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₄	IF ₂₀₁₄	Liczba cytowań
	30	2.062	7
P5.	Sujkowska-Rybkowska M., Borucki W., 2015. Pectins esterification in the apoplast of aluminum-treated pea root nodules. <i>Journal of Plant Physiology</i> . 184:1-7.		
	<i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń i opracowaniu metodyki większości oznaczeń, zdobyciu finansowania na zakup przeciwciał, prowadzeniu prac doświadczalnych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, prowadzeniu korespondencji z redaktorami czasopism (autor korespondujący), dokonaniu korekty manuskryptów z uwzględnieniem uwag recenzentów. Mój udział procentowy szacuję na 90%.</i>		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₅	IF ₂₀₁₅	Liczba cytowań
	35	2.557	8
P6.	Sujkowska-Rybkowska M., Czarnocka W., Sańko-Sawczenko I., Witoń D., 2018. Effect of short-term aluminum stress and mycorrhizal inoculation on nitric oxide metabolism in <i>Medicago truncatula</i> roots. <i>Journal of Plant Physiology</i> . 220: 145–154		
	<i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń i opracowaniu metodyki lokalizacji tlenu azotu i 3-nitrotyrozyny, zdobyciu finansowania na zakup przeciwciał, prowadzeniu większości prac doświadczalnych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, prowadzeniu korespondencji z redaktorami czasopism (autor korespondujący), dokonaniu korekty manuskryptów z uwzględnieniem uwag recenzentów. Mój udział procentowy szacuję na 70%.</i>		
	Punkty MNiSW ₂₀₁₈	IF ₂₀₁₈	Liczba cytowań
	35	3.241	3
P7.	Sujkowska-Rybkowska M., Znojek E., 2018. Localization of calreticulin and calcium ions in mycorrhizal roots of <i>Medicago truncatula</i> in response to aluminum stress. <i>Journal of Plant Physiology</i> . 229: 22–31		
	<i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń i opracowaniu metodyki, prowadzeniu prac doświadczalnych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, prowadzeniu korespondencji z redaktorami czasopism</i>		

<i>(autor korespondujący), dokonaniu korekty manuskryptów z uwzględnieniem uwag recenzentów. Mój udział procentowy szacuję na 95%.</i>		
Punkty MNiSW ₂₀₁₈	IF ₂₀₁₈	Liczba cytowań
35	3,241	0

Łączna wartość naukometryczna tych publikacji zgodnie z bazą Journal Citation Reports (JRC) i wykazów MNiSW (zgodnie z rokiem opublikowania) wynosi **210 punktów**. Sumaryczny współczynnik wpływu (IF) tych publikacji wynosi **16,016**.

II. INFORMACJA O AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ

1. Wykaz opublikowanych monografii naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.1).

Brak

2. Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.

Brak

3. Informacja o członkostwie w redakcjach naukowych monografii.

Brak

4. Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.2).

Publikacja z listy B MNiSW:

- Sujkowska M (2009) Przebieg procesu infekcji w układzie symbiotycznym rośliny motylkowate-*Rhizobium*. Wiadomości Botaniczne. 53(1/2): 35–53
Lista B MNiSW = 5 pkt

Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC)

- Sujkowska M, Borucki ., Golinowski W, (2006) Localization of acid phosphatase activity in the apoplast of pea (*Pisum sativum* L.) root nodules grown under phosphorus deficiency. Acta Physiol. Plant. 28: 263-271.
Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, opracowaniu metodyki badań i ich realizację, opracowanie i interpretację uzyskanych wyników oraz jako autor korespondujący, przygotowanie manuskryptu oraz odpowiedzi na recenzje i ostateczną redakcję manuskryptu po recenzjach. Mój udział procentowy w pracy szacuję na 80%.
[MNiSW = 10pkt; IF = 0.528]

- **Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, (2006)** Localization of acid phosphatase activity in the apoplast of root nodules of pea (*Pisum sativum*). *Acta Soc. Bot. Pol.* 75: 33-38.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, opracowaniu metodyki badań i ich realizację, opracowanie i interpretację uzyskanych wyników oraz, jako autor korespondujący, przygotowanie manuskryptu oraz odpowiedzi na recenzje i ostateczną redakcję manuskryptu po recenzjach. Mój udział procentowy w pracy szacuję na 80%.

[MNiSW = 10pkt., IF = 0.418]
- **Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, (2007)** Localization of expansin-like protein in apoplast of pea (*Pisum sativum* L.) root nodules during interaction with *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 248. *Acta Soc. Bot. Pol.* 76: 17-26.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, opracowaniu metodyki badań, zdobyciu finansowania na realizację badań w ramach grantu promotorskiego, opracowanie i interpretację uzyskanych wyników oraz, jako autor korespondujący, przygotowanie manuskryptu oraz odpowiedzi na recenzje i ostateczną redakcję manuskryptu po recenzjach. Mój udział procentowy w pracy szacuję na 80%.

[MNiSW = 10pkt., IF = 0.418]
- **Borucki W, Sujkowska M, (2008)** The effects of sodium chloride-salinity upon growth, nodulation, and root nodule structure of pea (*Pisum sativum* L.) plants. *Acta Physiol. Plant.* 30: 293-301.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeprowadzeniu doświadczeń, pobraniu próbek oraz wykonaniu analiz. Byłam odpowiedzialna za opracowanie i interpretację uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu. Mój udział procentowy w pracy szacuję na 80%.

[MNiSW = 10pkt., IF = 0.807]
- **Sujkowska M, Górską-Czekaj M, Bederska M, Borucki W, (2011)** Vacuolar organization in the nodule parenchyma is important for the functioning of pea root nodules. *Symbiosis.* 54: 1-16

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, zdobyciu finansowania na zakup przeciwciał oraz wykonaniu analiz mikroskopowych i immunocytochemicznych. Byłam odpowiedzialna za opracowanie i interpretację uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu. Mój wkład w powstanie tej pracy szacuję na 60%.

[MNiSW=20pkt; IF=1.214]
- **Borucki W, Bederska M, Sujkowska-Rybkowska M, (2015)** Visualisation of plastid outgrowths in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers by carboxyfluorescein diacetate staining. *Plant Cell Rep.* 34: 853-60

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na analizie mikroskopowej materiału roślinnego i opracowaniu graficznym wyników. Mój wkład w powstanie tej pracy szacuję na 30%.

[MNiSW = 35pkt; IF = 3.071]
- **Witoń D, Gawroński P, Czarnocka W, Ślesak I, Rusaczonka A, Sujkowska-Rybkowska M, Bernacki MJ, Dąbrowska-Bronk J, Tomsia N, Szechyńska-Hebda M, Karpiński S, (2016)** Mitogen Activated Protein Kinase 4 (MPK4) Influences Growth in *Populus tremula* L. x *tremuloides*. *Environ. Exp. Bot.* 130: 189-205

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na analizie cytochemicznej i mikroskopowej łodyg topoli pod kątem ich stopnia lignifikacji i opracowaniu graficznym wyników. Mój wkład w powstanie tej pracy szacuję na 15%.

[MNiSW = 40pkt; IF = 3.712]

- **Sujkowska-Rybkowska M, Ważny R, (2018)** Metal resistant rhizobia and ultrastructure of *Anthyllis vulneraria* nodules from zinc and lead contaminated tailing in Poland. *Intern. J. Phytorem.* 20:709-720.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zdobyciu finansowania na badania, zaplanowaniu doświadczeń oraz wykonaniu większości analiz. Byłam odpowiedzialna za pobranie próbek do badań, izolację bakterii z brodawek i ich charakterystykę, przygotowaniu materiału roślinnego do analiz mikroskopowych, opracowanie i interpretację uzyskanych wyników oraz, jako autor korespondujący, przygotowanie manuskryptu oraz odpowiedzi na recenzje i ostateczną redakcję manuskryptu po recenzjach. Mój udział procentowy wynosi 80%.

[MNiSW = 25pkt; IF = 2.237]

- **Sujkowska-Rybkowska M, Banasiewicz J, Rekosz-Burlaga H, Stępkowski T (2020)** *Anthyllis vulneraria* and *Lotus corniculatus* on calamine heaps form nodules with *Bradyrhizobium liaoningense*-related strains harboring novel in Europe symbiotic nifD haplotypes. *App. Soil Ecol.* 151:103539

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań wraz z dr hab. Stępkowskim, zaplanowaniu doświadczeń oraz wykonaniu części analiz. Byłam odpowiedzialna za pobranie próbek do badań, izolację bakterii z brodawek i ich charakterystykę, przygotowanie materiału roślinnego do analiz mikroskopowych, opracowanie i interpretację uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu. Mój udział procentowy wynosi 60%.

[MNiSW = 140 pkt; IF = 3.445]

- **Sujkowska-Rybkowska M, Kasowska D, Gediga K, Banasiewicz J, Stępkowski T (2020)** *Lotus corniculatus* - rhizobia symbiosis under Ni, Co and Cr stress on ultramafic soil. *Plant Soil.* 451: 459-484

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń oraz wykonaniu części analiz, zdobyciu finansowania na realizację badań w ramach grantu Miniatura 3. Byłam odpowiedzialna za izolację bakterii z brodawek i ich charakterystykę, przygotowanie materiału roślinnego do analiz mikroskopowych, opracowanie i interpretację uzyskanych wyników oraz, jako autor korespondencyjny, przygotowanie manuskryptu oraz odpowiedzi na recenzje i ostateczną redakcję manuskryptu po recenzjach. Mój udział procentowy wynosi 70%.

[MNiSW = 140 pkt; IF = 3.259]

- **Sujkowska-Rybkowska M, Muszyńska E, Labudda M (2020)** Structural adaptation and physiological mechanisms in the leaves of *Anthyllis vulneraria* L. from metalicolous and non-metallicolous populations. *Plants.* 9(662):662

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń oraz wykonaniu części analiz, zdobyciu finansowania na realizację badań. Byłam odpowiedzialna za pobranie materiału roślinnego do analiz, opracowanie i interpretację uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu oraz, jako autor korespondujący, odpowiedzi na recenzje i ostateczną redakcję manuskryptu po recenzjach. Mój udział procentowy wynosi 70%. [MNiSW = 70 pkt; IF = 2.762]

- Czarnocka W, Rusaczonek A, Willems P, Sujkowska-Rybkowska M, Van Breusegem F, Karpinski S, 2020. Novel role of JAC1 in influencing photosynthesis, stomatal conductance and photooxidative stress signalling pathway in *Arabidopsis thaliana*. Front. Plant Sci. doi.org/10.3389/fpls.2020.01124

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na analizie cytochemicznej i mikroskopowej liści Arabidopsis pod kątem stresu oksydacyjnego i programowanej śmierci komórki i opracowaniu graficznym wyników. Mój wkład w powstanie tej pracy szacuję na 15%.
[MNiSW = 100 pkt; IF = 4.106]

- Rusaczonek A, Czarnocka W, Willems P, Sujkowska-Rybkowska M, Van Breusegem F, Karpiński S „Phototropin 1 and 2 influence photosynthesis, UV-C induced photooxidative stress responses and cell death”. Front. Plant Sci. (w druku)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na analizie cytochemicznej i mikroskopowej liści Arabidopsis pod kątem stresu oksydacyjnego i programowanej śmierci komórki i opracowaniu graficznym wyników. Mój wkład w powstanie tej pracy szacuję na 15%.
[MNiSW = 100 pkt; IF = 4.106]

Materiały konferencyjne ujęte w wykazie Journal Citation Reports (JRC)-Lewandowska M, Górecka M., Białasek M., Sujkowska-Rybkowska M., Karpiński S. 2016. Incorporation of inorganic nanostructures into the internal structures of *Arabidopsis thaliana*. New Biotechnology 33, 25: 86. doi: 10.1016/j.nbt.2016.06.1018.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na analizie mikroskopowej nanorurek węglowych (SWNT) i ich przemieszczania w roślinie oraz opracowaniu graficznym wyników. Mój wkład w powstanie tej pracy szacuję na 20%.

Łączna wartość naukometryczna tych publikacji zgodnie z bazą Journal Citation Reports (JRC) i wykazów MNiSW (zgodnie z rokiem opublikowania) wynosi **715 punktów**. Sumaryczny współczynnik wpływu (IF) tych publikacji wynosi **30,086**.

5. Wykaz osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).

Brak

6. Wykaz publicznych realizacji dzieł artystycznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).

Brak

7. Informacja o wystąpieniach na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów

Abstrakty komunikatów naukowych opublikowane w materiałach konferencyjnych
(abstrakty wystąpień ustnych, posterów oraz e-posterów)

Przed uzyskaniem stopnia doktora:

1. Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, 2003: Ultrastructural localization of acid phosphatase activity in the infection threads of pea root nodules. Book of Abstracts S31, p.426. The 7th International Congress of Plant Molecular Biology. Barcelona, Hiszpania, 23-28.06 - poster

2. Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, 2003: Localization of acid phosphatase activity in the apoplast of pea root nodules. Polish Journal of Natural Sciences supp. 1, 152. *1st Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology*, Olsztyn, Polska, 3-6.09 - poster
3. Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, 2004: Localization of acid phosphatase activity and expansins in the apoplast of pea root nodules. Congress Book of Abstracts 26:265. *The 14th Congress of Federation of European Societies of Plant Biology*, Kraków, 23-27.08 - poster
4. Sujkowska M, Borucki W, Golinowski W, 2005: Localization of expansin-like protein in the apoplast of effective and ineffective pea root nodules. Biological Letters, 42(2): 147. *2nd Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology*, Poznań, 26-29.09 - poster oraz prezentacja ustna

Po uzyskaniu stopnia doktora:

5. Sujkowska-Rybkowska M, 2010: Effect of short term aluminium on antioxidant enzyme activity of pea root nodules. Streszczenia referatów i plakatów str. 127. 55 *Konferencja PTB "Planta in vivo, in vitro et in silico"*. Warszawa, 6-12.09 - poster
6. Sujkowska-Rybkowska M, 2012: Aluminum-induced rapid changes in the apoplast of pea (*Pisum sativum* L.). Book of Abstracts str. 160. 5 *Konferencja PTBR pt: „3P, past, prezent and perspectives”*. Wrocław, 6-9.09 - poster
7. Górská-Czekaj M, Sujkowska-Rybkowska M, Borucki W, 2012: A correlative study of H₂O₂ generation induced by copper and mercury observed under light, electron and confocal laser scanning microscopy. Book of Abstracts str. 148. 5 *Konferencja PTBR „3P, past, prezent and perspectives”*. Wrocław 6-9.09 - poster
8. Sujkowska-Rybkowska M, 2012: Structural changes in *Medicago truncatula* root nodules caused by Al stress. 7th *International Symbiosis Society Congress „The earth's vast symbiosphere”*. Kraków, 22-28.07 - poster
9. Sujkowska-Rybkowska M, 2013: Localization of nitric oxide (NO) in Al-treated pea (*Pisum sativum*) root nodules. 11th *International POG Conference on reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants*. Warszawa, 17-19.07 - poster
10. Sujkowska-Rybkowska M, 2013: Al-induced changes in infection thread growth of pea root nodules. 56 *zjazd PTB*. Olsztyn, 24-30.06 - poster
11. Sujkowska-Rybkowska M, 2013: Immunolocalization of extension in Al-treated pea root nodules. Biotechnologia. Vol. 94(3), 356. *The 6th Conference of the PSEPB*. Łódź, 16-19.09 - poster
12. Sujkowska-Rybkowska M, 2013: Localization of nitric oxide (NO) in Al-treated pea root nodules. Biotechnologia. Vol. 94(2), 240. *The 11th International POG Conference*. Warszawa, 17-19.07 - poster
13. Sujkowska-Rybkowska M, 2013: Zmiany we wzroście nici infekcyjnych w brodawkach korzeniowych grochu wywołane toksycznym działaniem Al. Streszczenia wystąpień ustnych i plakatów str. 449. 56 *zjazd PTB*, Olsztyn, 24-30.06 - poster
14. Sujkowska-Rybkowska M, 2014: Lokalizacja tlenu azotu w korzeniach znikoryzowanych poddanych toksycznemu działaniu Al lub Zn. *Konferencja Polskiego Towarzystwa Mykologicznego pt. Warsztaty Polskiego Towarzystwa Mykologicznego*. Łódź i Spała, 24-28.09- poster
15. Sujkowska-Rybkowska M, 2015: Localization of calcium ions in mycorrhizal roots and root nodules of *Medicago truncatula* in response to aluminum stress. Book of Abstracts str. 12. *International Symbiosis Society Congress*. Lizbona, Portugalia, 12-18.07- poster

16. Sujkowska-Rybkowska M, 2015: Subcellular localization of nitric oxide in arbuscular mycorrhizal roots exposed to metal stress. Book of Abstracts str. 97. *International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants from model systems to field*. Verona, Włochy, 24-26.07 - poster
17. Sujkowska-Rybkowska M, 2015: Pectins esterification in the apoplast of aluminum-treated pea nodules. Book of Abstracts str. 174. *PTBER*. Gdańsk, 8-11.09 - poster
18. Lewandowska M, Górecka M, Bialasek M, Sujkowska-Rybkowska M, Dworakowska B, Karpinski S, 2016: Incorporation of inorganic nanostructures into the internal structures of *Arabidopsis thaliana*. *New Biotechnology* 33:S86. *Europejski Kongres Biotechnologii*. Kraków, 03-06.07 - poster
19. Witoń D, Gawroński P, Czarnocka W, Ślesak I, Rusaczek A, Sujkowska-Rybkowska M, Bernacki M, Dąbrowska-Bronk J, Tomsia N, Szechyńska-Hebda M, Karpiński S. 2016: Mitogen activated protein kinases (MAPKs or MPKs) are important molecular regulators involved in plant development and stress responses. *Europejski Kongres Biotechnologii*, Kraków, 03-06.07 - poster
20. Sujkowska-Rybkowska M, Ważny R, Turnau K, 2016: Brodawki korzeniowe *Anthyllis vulneraria* rosnących nawałdach cynkowo-olowiowych „Bolesław”; izolacja i wstępna charakterystyka bakterii *Rhizobium* sp. Materiały konferencyjne str. 271. 57 Zjazd Polskiego Towarzystwa Botanicznego „Botanika - tradycja i nowoczesność”. Lublin, 27.06-04.07 - poster
21. Sujkowska-Rybkowska M, 2017: Analiza ultrastrukturalna brodawek korzeniowych *Anthyllis vulneraria* w warunkach optymalnych i w warunkach stresu wywołanego metalami ciężkimi. Materiały konferencyjne str. 79. Zjazd Polskiego Towarzystwa Botanicznego. *Anatomia i histogeneza roślin: wczoraj, dziś i jutro*. Rogów, 16-17.05 - poster
22. Sujkowska-Rybkowska M, 2017: Arbuscular mycorrhizal symbiosis affect tyrosine nitration in Al-treated plants. Materiały konferencyjne str. 217. 8 konferencja PTBER Białystok, 12-15.09 - poster
23. Sujkowska-Rybkowska M, Stępkowski T, Banasiewicz J, Kasowska D, Gediga K, 2018: Isolation and characterization of *Rhizobium* bacteria from *Lotus corniculatus* root nodules growing on serpentine soil. Book of Abstracts str. 111. *Central and Eastern European Conference on Health and the Environment, (CEECH)* “Environmental and health issues in fast changing economies”. Kraków, 10-14.06 - poster
24. Sujkowska-Rybkowska M, Stępkowski T, Banasiewicz J, 2018: Charakterystyka filogenetyczna szczepów *Bradyrhizobium* izolowanych z brodawek korzeniowych *Lotus corniculatus* rosnących nawałdach galmanowych. Book of Abstracts str. 74. III Ogólnopolskie Sympozjum Mikrobiologiczne “Metagenomy różnych środowisk”. Lublin, 28-29.06 - poster
25. Sujkowska-Rybkowska M, Banasiewicz J, Stępkowski T, 2018: Phylogenetic properties of *Bradyrhizobium* strains nodulating *Lotus corniculatus* and *Anthyllis vulneraria* growing in heavy metal-contaminated soils. Book of Abstracts str. 201. *13th European Nitrogen Fixation Conference*. Stockholm, Szwecja, 18-21.08 - poster
26. Sujkowska-Rybkowska M, Czarnocka W, Sańko-Sawczenko I, Witoń D, 2018: “Nitric oxide metabolism in arbuscular mycorrhizal roots of *Medicago truncatula* under aluminum stress”. Book of abstract str. 39. *VISCEA, Plant Abiotic Stress Tolerance*. Wiedeń, Austria, 5-6.07 - poster
27. Sujkowska-Rybkowska M, Banasiewicz J, Stępkowski T, Kasowska D, Gediga K. 2019: Legumes plants and their associated symbionts in heavy metals contaminated sites. Book of Abstract str. 211. *Conference ILS3*. Poznań, 21-24.05 - poster

28. **Sujkowska-Rybkowska M**, Kasowska D, Gediga K, 2019: Reorganizacja apoplastu brodawek korzeniowych trzech kontrastujących ekotypów *Lotus corniculatus* L. w odpowiedzi na stres metali ciężkich. Książka abstraktów str. 255. 58 Zjazd PTB-Botanika bez granic. Kraków, 1-7.07 - poster
29. Muszyńska E, Labudda M, Górecka M, **Sujkowska-Rybkowska M**, Różańska E. 2019: Charakterystyka ekotypów *Silene vulgaris*. Książka abstraktów str. 63. 58 Zjazd PTB-Botanika bez granic. Kraków, 1-7.07- poster.
30. **Sujkowska-Rybkowska M**, Muszyńska E, Labudda M, 2019: The anatomical structure, pigments content and antioxidant system efficiency In leave of *Anthyllis vulneraria* calamine ecotype. Book of Abstracts str. 116. 9th Conference PTBER, Toruń, 9-12.09 - poster
31. Lisek A, Sas L, **Sujkowska-Rybkowska M**, Derkowska E, 2019: Identyfikacja arbuskularnych grzybów mykoryzowych w korzeniach roślin z zastosowaniem technik analizy DNA. Konferencja - Ochrona bioróżnorodności gleby warunkiem zdrowia obecnych i przyszłych pokoleń. Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, Skierniewice, 16.10- poster
32. Lisek A, Sas L, **Sujkowska-Rybkowska M**, Derkowska E, 2019: Zastosowanie technik biologii molekularnej do identyfikacji pożytecznych mikroorganizmów w bionawożeniu roślin. Szkolenie pt. „Innowacyjne technologie mikrobiologiczne w uprawie roślin”. Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, Skierniewice 25.10- referat

8. Informacja o udziale w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych lub międzynarodowych, z podaniem pełnionej funkcji.

- Udział w organizacji 59 zjazdu PTB, stanowisko techniczno- organizacyjne

9. Informacja o uczestnictwie w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem na projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów.

- **Wykonawca** – projekt badawczy promotorski Ministerstwa Nauki i Informatyzacji „Lokalizacja ekspansyn w efektywnych i nieefektywnych brodawkach korzeniowych grochu (*Pisum sativum*)” nr 2PO6A 006 28 lata 2004-2006, kierownik prof. dr hab. Władysław Golinowski
- **Wykonawca** - projekt NCN Sonata Bis 3 pt. "Rola zależnej od światła biosyntezy chlorofilu w regulacji biosyntezy i składania fotosyntetycznych kompleksów barwnikowo-białkowo-lipidowych w roślinach okrytonasiennych." UMO-2013/10/E/NZ3/00748, w latach 2014-2020, kierownik- dr hab. Beata Myśliwa-Kurdziel
- **Kierownik** – projekt NCN MINIATURA 3 pt. „Rearanżacja apoplastu brodawek *Lotus corniculatus* w warunkach silnego skażenia metalami ciężkimi” nr DEC-2019/03/X/NZ9/00019, w latach 2019-2020

10. Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach.

- Członek Polskiego Towarzystwa Mykologicznego (PTMYK)
- Członek Polskiego Towarzystwa Botanicznego (PTB)
- Członek Głównej Komisji Rewizyjnej PTB 2016-2019r

- Członek Komisji Rewizyjnej Warszawskiego Oddziału PTB od 2019r
11. Informacja o odbytych stażach w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru.
- Staż zawodowy- Kutnowska Stacja Hodowli Buraka Cukrowego w Straszku, lipiec 1998 r.
 - Staż naukowy - Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, 1.10.2018-1.03.2019r.
12. Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism wraz z informacją o pełnionych funkcjach (np. redaktora naczelnego, przewodniczącego rady naukowej, itp.).
- Od 2019r Edytor w czasopiśmie Cell & Cellular Life Sciences Journal (CCLSJ)
13. Informacja o recenzowanych pracach naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych.
- Recenzowałam ponad 20 artykułów naukowych dla czasopism zagranicznych z bazy JCR, ale posiadam potwierdzenia mailowe od 2015 roku dla 19 z nich:
- Acta Physiologia Plantarum, 2019-2020r - 2 recenzje
 - Agronomy, 2020r - 3 recenzje
 - Archives of Agronomy and Soil Science, 2016r - 1 recenzja
 - Cell & Cellular Life Sciences Journal (CCLSJ), 2020r - 1 recenzja
 - Environmental and Experimental Botany, 2019-2020r - 4 recenzje
 - Environmental Pollution, 2020r - 2 recenzje
 - Journal of Agriculture Research, 2018r - 1 recenzja
 - Plant Cell Environment, 2018r - 1 recenzja
 - Science of the Total Environment, 2018r - 1 recenzja
 - Scientific Reports, 2018r - 1 recenzja
 - Symbiosis, 2015r - 2 recenzje
14. Informacja o uczestnictwie w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych.
- Brak
15. Informacja o udziale w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. II.
- W trakcie swojej pracy w 2019 roku nawiązałam współpracę z prof. Jaco Vansgrosveld'em z Hasselt University w Belgii. W ramach współpracy miałam uczestniczyć w 3 miesięcznym stażu w Hasselt University, jednak nie udało mi się zdobyć finansowania na ten wyjazd.
16. Informacja o uczestnictwie w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych, wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy lub dydaktyczny.
- Brak

17. Międzynarodowe i krajowe nagrody i wyróżnienia za działalność naukową

- Wyróżnienie Rektora SGGW w Warszawie pracy magisterskiej pt. „*Wpływ zasolenia podłoża chlorkiem sodu na strukturę brodawek korzeniowych grochu*” w kategorii prac o najwyższych wartościach naukowych.
- Wyróżnienie Rady Wydziału Rolnictwa i Biologii SGGW w Warszawie pracy doktorskiej pt. „*Charakterystyka apoplastu efektywnych i nieefektywnych brodawek korzeniowych grochu*”.
- Wyróżnienie Komisji Naukowej PTB posteru pt. „*Al-induced changes in infection thread growth of pea root nodules*” podczas 56 zjazdu PTB organizowanego w Olsztynie w dniach 24-30.06.2013r.
- Nagroda Rektora indywidualna III stopnia za osiągnięcia naukowe 01.10.2008 SGGW Warszawa
- Nagroda Rektora zespołowa III stopnia za osiągnięcia naukowe 01.10.2016 SGGW Warszawa

III. INFORMACJA O WSPÓŁPRACY Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

1. Wykaz dorobku technologicznego.

Brak

2. Informacja o współpracy z sektorem gospodarczym.

Brak

3. Uzyskane prawa własności przemysłowej, w tym uzyskane patenty, krajowe lub międzynarodowe.

Brak

4. Informacja o wdrożonych technologiach.

Brak

5. Informacja o wykonanych ekspertyzach lub innych opracowaniach wykonanych na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorców.

- Sujkowska-Rybkowska M. 2020r. - Ekspertyza – Przygotowanie próbek do mikroskopii elektronowej z immunoznakowaniem składników ścian komórkowych drożdży i obróbka graficzna dokumentacji dla projektu realizowanego przez Instytut Nauk o Żywności, miejsce wykonania Katedra Botaniki, SGGW, Warszawa. Umowa nr. 1/2020/710200 z 20.04.2020.
- Sujkowska-Rybkowska M. 2018r – Ekspertyza - Przygotowanie próbek etiolowanych liści *Arabidopsis* WT oraz mutantów z uszkodzoną biosyntezą chlorofilu lub karotenoidów do mikroskopii elektronowej, dokumentacja i obróbka graficzna dokumentacji dla projektu realizowanego przez Katedrę Fizjologii Roślin i Biochemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, miejsce wykonania Katedra Botaniki, SGGW, Warszawa. Umowa nr 1/2018

6. Informacja o udziale w zespołach eksperckich lub konkursowych.

Brak

7. Informacja o projektach artystycznych realizowanych ze środowiskami pozaartystycznymi.

Brak

IV. INFORMACJE NAUKOMETRYCZNE

A. Informacja o punktacji Impact Factor (w dziedzinach i dyscyplinach, w których parametr ten jest powszechnie używany jako wskaźnik naukometryczny).

- Mój dorobek naukowy stanowi 20 prac anglojęzycznych opublikowanych w recenzowanych czasopismach, notowanych w bazie Web of Sciences i Journal Citation Reports i 1 praca przeglądowa opublikowana w języku polskim. 20 prac posiada współczynnik wpływu Impact Factor. Sumaryczny współczynnik wpływu IF według listy Journal Citation Reports (zgodnie z rokiem opublikowania) wynosi 46,102, a na *Osiągnięcie*, które jest podstawą wniosku habilitacyjnego przypada sumaryczny IF = 16,016.

B. Informacja o liczbie cytowań publikacji wnioskodawcy, z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań.

- Liczba cytowań moich prac wg bazy Web of Science Core Collection wynosi 97 (bez autocytowań 65). Są to dane z 14.09.2020r.

C. Informacja o posiadanym indeksie Hirscha.

- Index Hirscha wg bazy Web of Science Core Collection wynosi 7, a zgodnie z bazą Scopus wskaźnik ten wynosi 8 (dane z 14.09.2020r).

D. Informacja o liczbie punktów MNiSW.

- Sumaryczna liczba punktów wg wykazu czasopism MNiSW wynosi 925 punktów, z czego 210 punktów przypada na *Osiągnięcie naukowe*, które jest podstawą wniosku habilitacyjnego.


(podpis wnioskodawcy)

