
Elżbieta Król

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Biologii i Biotechnologii

AUTOREFERAT

Lublin 2015

SPIS TREŚCI

1. ŻYCIORYS	1
2. PRZEBIEG PRACY NAUKOWEJ	2
3. WYKAZ OSIĄGNIĘĆ W PRACY NAUKOWO-BADAWCZEJ	
ROZPRAWA HABILITACYJNA	3
4. WYKAZ OSIĄGNIĘĆ W PRACY NAUKOWO-BADAWCZEJ	
Z WYŁĄCZENIEM PRAC WSCHODZĄCYCH W SKŁAD	
ROZPRAWY HABILITACYJNEJ.....	20
5. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO	28

ŻYCIORYS

DANE OSOBISTE

NAZWISKO: **Król**
IMIONA: **Elżbieta**
DATA I MIEJSCE URODZENIA: **18.06.1971, Lublin**
STAN CYWILNY: **zameżna (1993)**


ADRES SŁUŻBOWY: **Zakład Biofizyki
Instytut Biologii i Biochemii
Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
ul. Akademicka 19
20-033 Lublin**

TELEFON: (48-81) 537 59 55
FAX: (48-81) 537 59 01
E-MAIL: ela.krol@poczta.umcs.lublin.pl

WYKSZTAŁCENIE:

- 1991-96** studia w zakresie biotechnologii na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie zakończone uzyskaniem tytułu mgr; praca magisterska pod opieką prof. dr hab. Anny Skorupskiej w Zakładzie Genetyki i Mikrobiologii;
- 2004** doktor nauk biologicznych; Zakład Biofizyki, Instytut Biologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, UMCS, Lublin; praca doktorska pt. „*Badanie mechanizmu jonowego zmian potencjału membranowego komórek roślinnych wywołanych bodźcami świetlnymi i termicznymi*”; promotor – prof. dr hab. Kazimierz Trębacz (UMCS, Lublin), recenzenci – prof. dr hab. Wiesław Gruszecki (UMCS, Lublin) oraz prof. dr hab. Zygmunt Hejnowicz (Uniwersytet Śląski, Katowice);
- 2009** dwusemestralne studia podyplomowe w zakresie zarządzania badaniami naukowymi i pracami w jednostkach naukowych; Wydział Filozofii, Katolicki Uniwersytet Lubelski, Lublin;

Lublin, 13.01.2015
(Place, date)



(Applicant's signature)

PRZEBIEG PRACY ZAWODOWEJ

ZATRUDNIENIE:

- 1996 – 2004** asystent– Zakład Biofizyki, Instytut Biologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, UMCS, Lublin;
- 2003 – 2004** nauczyciel biologii – I Liceum Ogólnokształcące w Lublinie;
- 2004 – obecnie** adiunkt – Zakład Biofizyki, Instytut Biologii i Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, UMCS, Lublin;
- 2010 – obecnie** pracownik naukowy (kontraktowy) – Zakład Fizjologii Roślin i Biofizyki, Katedra Botaniki, Uniwersytet Würzburg, Niemcy;

UKOŃCZONE KURSY ZAWODOWE:

- 2002** Kurs „Technika PCR i jej zastosowania”, DNA-Gdańsk II s.c., Gdańsk
- 2002** „Course in Neuroscience”, International Brain Organization (IBRO), Wrocław

PUBLIKACJE NAUKOWE:

ARTYKUŁY NAUKOWE: **31** (24 p. eksperymentalnych + 7 p. przeglądowych)
PODRĘCZNIKI I SKRYPTY: **2**
KOMUNIKATY ZJAZDOWE: **38**

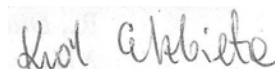
RECENZJE WYDAWNICZE: **14**

ZAINTERESOWANIA NAUKOWE:

- zjawiska elektryczne w komórkach roślinnych (podłoże powstawania i przemieszczania się zmian potencjału transmembranowego, fizjologiczna rola indukowanych zmian potencjału transmembranowego, poszukiwanie i badanie funkcji kanałów i transporterów jonowych metodami elektrofizjologicznymi i optycznymi);
- transport substancji odżywczych (makro- i mikroelementów, cukrów, aminokwasów) oraz transport auksyn w poprzek błony komórkowej;
- wczesne odpowiedzi immunologiczne u roślin (depolaryzacja błony komórkowej, alkalizacja apoplastu, aktywacja NADPH oksydazy i produkcja reaktywnych form tlenu) oraz ich wpływ na systemiczne reakcje nabycia odporności i hartowania;

Lublin, 13.01.2015

(Place, date)



(Applicant's signature)

**WYKAZ OSIĄGNIĘĆ W PRACY
NAUKOWO-BADAWCZEJ
ROZPRAWA HABILITACYJNA**

Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

A) Tytuł osiągnięcia naukowego wraz z listą publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

„Zmiany potencjału transmembranowego jako pierwsza odpowiedź komórki na zmiany w środowisku zewnętrznym”

Tabela 1

Lp	Dane bibliograficzne	IF *	Punkty MNiSW **	Średnia liczba cyt/rok ***	Udział własny %
1 ^e	Król E. , Dziubińska H., Stolarz M., Trębacz K. (2006) <i>Effects of ion channel inhibitors on cold- and electrically-induced action potentials in <i>Dionaea muscipula</i></i> Biologia Plantarum 50: p.411-416	1,19	25	2,11	55
2 ^e	Król E. , Dziubińska H., Trębacz K., Koselski M., Stolarz M. (2007) <i>The influence of glutamic and aminoacetic acids on the excitability of the liverwort <i>Conocephalum conicum</i></i> J Plant Physiol 164: p.773-784	2,24	35	0,75	80
3 ^e	Król E. , Mentzel T., Chinchilla D., Boller T., Felix G., Kemmerling B., Postel S., Arents M., Jeworutzki E., Al-Rasheid K.A.S., Becker D., Hedrich R. (2010) <i>Perception of the Arabidopsis danger signal peptide 1 involves the pattern recognition receptor AtPEPR1 and its close homologue AtPEPR2</i> J Biol Chem 285: p.13471-13479	5,33	35	14,40	35
4 ^p	Król E. , Dziubińska H., Trębacz K., (2010) <i>What do plant need action potentials for?</i> in Action Potential: Biophysical Cellular Context, Initiation, Phases Propagation; M.L. DuBois (Ed.); Nova Science Publishers Inc. NY, USA; pp. 1-26	0	7	0	90

5^p Król E., Płachno B., Adamec L., Stolarz M., Dziubińska H., Trębacz K., (2011) <i>Quite a few reasons for calling carnivores the most wonderful plants in the world</i> Ann Bot 109: pp. 47-64	4,03	40	6,00	40
--	------	----	------	----

SUMA	12,79	142	23,26	300
-------------	--------------	------------	--------------	------------

ŚREDNIA	3,75	28,4	4,65	60
----------------	-------------	-------------	-------------	-----------

* IF zgodnie z rokiem publikacji

** Liczba punktów za publikację według wykazu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego

*** Średnia liczba cytowań zgodnie z kalkulacją web of science (Thomson Reuters)

^p – praca przeglądowa

^e – praca eksperymentalna

B) Omówienie osiągniętych wyników wraz z odniesieniem się do danych literaturowych

Każdą żywą komórkę charakteryzuje potencjał transmembranowy, gdzie w stanie spoczynku cytoplazmatyczna strona błony jest naładowana negatywnie i może przyjąć wartości od -50 do -200 mV. Za powstanie potencjału spoczynkowego odpowiedzialne są białka transmembranowe - kanały, transportery i pompy - uczestniczące w selektywnym przenoszeniu/przepuszczaniu naładowanych cząsteczek - jonów. Przemieszczanie się jonów w obrębie kanału zachodzi na drodze dyfuzji zgodnie z gradientem elektrochemicznym (transport bierny). Transportery wspomagają dyfuzję jonów i mogą zachowywać się jak kanały, a tylko mniejsza szybkość przemieszczania się jonów będzie je wówczas od kanałów odróżniać (Scherzer et al., 2013; Xue et al., 2011). Transportery mogą też wykorzystać gradient elektrochemiczny jednego z jonów do przeniesienia drugiego składnika wbrew gradientowi tego drugiego (tzw. co-transport). Jeśli ruch obu przenoszonych substratów/jonów odbywa się w tym samym kierunku, mówimy o symporcie; przeciwstawne kierunki przenoszenia substratów to antyport. Zatem, energia zgromadzona w nierównomiernym rozmieszczeniu jednego z jonów może zostać efektywnie wykorzystana do transportu drugiego jonu/substratu. Energia ta powstaje w wyniku pracy pomp (transport aktywny), które z kolei wykorzystują hydrolizę związków wysokoenergetycznych takich jak ATP lub pirofosforan, PPi. Prędkość takiej aktywnej reakcji wynosi ok. 10^2 jonów/s; transportery przenoszą jony z szybkością 10^3 - 10^5 jonów/s, zaś kanały – 10^6 - 10^7 jonów/s.

Przemieszczaniu się jonów w poprzek błony towarzyszą zmiany potencjału transmembranowego, które można mierzyć bezpośrednio przy użyciu technik (mikro)elektrodowych (Yan et al., 2009) lub pośrednio z zastosowaniem technik optycznych (Konrad and Hedrich, 2008). W swoich dotychczasowych badaniach posługiwałam się wyłącznie mikroelektrodami zarówno do pomiarów potencjału transmembranowego (Carpaneto et al., 2007; Koselski et al., 2008; Król et al., 2006; Król et al., 2003; Król et al., 2004; Król et al., 2007; Król and Trębacz, 1999; Trębacz et al., 1997) jak i przy pomiarze prądów płynących przez badane kanały/transportery (Carpaneto et al., 2007; Scherzer et al., 2013). Zmiany potencjału transmembranowego były wywołane zarówno przez bodźce abiotyczne (zmiany w oświetleniu, spadek temperatury, wzrost zewnątrzkomórkowego stężenia soli alkalicznych) jak i biotyczne (obecność patogennego antygeny, aminokwasów, fitochormonów), a depolaryzacja błony (strona cytoplazmatyczna staje się mniej ujemna) stała się stałym zjawiskiem, któremu towarzyszyły różne mechanizmy jonowe. Analizą tych mechanizmów zajmowałam się od początku pracy naukowej, rozpoczynając swe badania od pobudliwej rośliny lądowej – wątrobowca *Conocephalum conicum*. W pracy doktorskiej (Favre et al., 1999; Król et al., 2003; Król and Trębacz, 1999; Król and Trębacz, 2000) udało mi się potwierdzić, że mechanizm jonowy potencjałów czynnościowych (*action potentials*, APs) opiera się na następującej po sobie aktywacji kanałów anionowych (wypływ anionów z komórki = depolaryzacja) i potasowych (wypływ potasu z komórki = repolaryzacja; powrót do stanu spoczynkowego) oraz, że potencjałom czynnościowym u *Conocephalum conicum* zawsze towarzyszy składowa wapniowa (Król et al., 2003; Król and Trębacz, 1999). Źródłem jonów wapniowych podczas AP może być zarówno apoplast

(Beilby, 2007) jak i zasoby wewnątrzkomórkowe (Beilby, 2007; Thiel and Dityatev, 1998), a udział obu tych kompartmentów był postulowany w mojej pracy doktorskiej. Ważnym wnioskiem wypływającym z tych badań było doniesienie, że składowa wapniowa potencjałów czynnościowych nie podlega prawu „wszystko-albo-nic” (jej amplituda zależy od siły bodźca) i nie rozprzestrzenia się wzdłuż błony komórkowej (w przeciwieństwie do anionowo-potasowych prądów AP). Najprawdopodobniej kanały wapniowe, których struktura molekularna do tej pory nie jest znana (Hedrich, 2012), nie są bramkowane napięciem lub ich gęstość w obrębie błony jest zbyt mała, aby umożliwić propagację sygnału (Król et al., 2003; Król and Trębacz, 1999). Próbę charakterystyki kanałów wapniowych podjęłam w trzech kolejnych pracach, z których jedna weszła w skład niniejszej rozprawy habilitacyjnej (Carpaneto et al., 2007; **Król et al., 2006**; Król et al., 2004).

Zmiany potencjału membranowego wywołane bodźcami abiotycznymi

Dzięki zastosowanej farmakologii (Król et al., 2004) oraz bezpośrednim pomiarom prądów pojawiających się w odpowiedzi na szok chłodu (Carpaneto et al., 2007) stało się możliwe wysunięcie wniosku, że za rejestrowaną depolaryzację błony komórkowej podczas spadku temperatury (rys. 1A) odpowiedzialne są kanały wapniowe, których prawdopodobieństwo otwarcia wzrasta wraz ze spadkiem temperatury (*cold-activated Ca-channels*). Ich obecność zarówno w plazmalemmie jak i w tonoplaście otaczającym wakuolę była postulowana tak przeze mnie (Król et al., 2004) jak i przez inne grupy badawcze (Knight et al., 1996; Knight, 2002; Lewis et al., 1997; Plieth et al., 1999). Udział kanałów wapniowych nie tylko w procesie percepcji chłodu lecz także podczas aklimatyzacji (Knight, 2002), gdzie tzw. „podpis wapniowy” (*calcium signature*) oraz wiążąca się z nim regulacja kanałów wapniowych ulega zmianie wraz ze zmiennym hartowaniem nasion (obecność wernalizacji vs jej brak), był przeze mnie badany na siewkach rzepaku *Brassica napus*, a uzyskane wyniki zaprezentowane w postaci posteru na konferencji *The First Symposium on Plant Neuroscience* we Florencji (Król et al., 2005).

Jednym z kandydatów kanałów wapniowych biorących udział w percepcji zimna u *Arabidopsis* jest **AtGLR3.4** (Meyerhoff et al., 2005). *AtGLR* (*glutamate receptors*) – receptory glutaminianu stanowią rodzinę 20 nieselektywnych kanałów kationowych bramkowanych obecnością różnych aminokwasów w zależności od przynależności do jednej z trzech grup utworzonych zgodnie z homologią sekwencji kodujących (Chiu et al., 2002; Dietrich et al., 2010; Tapken et al., 2013). Jak dotąd próby ich ekspresji w oocytach afrykańskiej żaby *Xenopus laevis* lub w ssaczycy liniach komórkowych (np. *HEK - human embryonic kidney cell*) skończyły się niepowodzeniem dla większości z nich; wyjątkiem są *AtGLR1.1*, *AtGLR1.4*, *AtGLR3.4* i *AtGLR3.7* (Meyerhoff et al., 2005; Roy et al., 2008; Tapken et al., 2013; Tapken and Hollmann, 2008; Vincill et al., 2012). Równie wielu trudności przysparza fenotypowa analiza pojedynczych mutantów, gdyż wiele homologów GLR ulega jednoczesnej ekspresji w danej tkance (Chiu et al., 2002; Roy et al., 2008), więc brak jednego z nich wydaje się być maskowany przez obecność pozostałych. Tylko dla

nielicznych homologów GLR udało się odnaleźć fenotyp związany z zaburzoną ekspresją pojedynczego genu, np.:

- glr1.1* – wykazuje się zwiększonym poziomem endogennego ABA, a stąd obniżoną zdolnością do kiełkowania i zwiększoną czułością na egzogenny ABA (Kang et al., 2004);
- glr1.2* – ma zaburzony wzrost i morfologię łagiewki pyłku (Michard et al., 2011);
- glr3.3* – wykazuje brak depolaryzacji w odpowiedzi na obecność Gly i Glu (Qi et al., 2006) oraz zaburzoną odpowiedź grawitropiczną korzeni (Miller et al., 2010);
- glr3.2* i *glr3.4* – mają zaburzoną zwiększoną liczbę miejsc powstawania korzeni bocznych oraz zaburzoną ich lokalizację (Vincill et al., 2013); nadekspresja *AtGLR3.2* wywołuje nadwrażliwość na stres jonowy i objawy niedoboru wapnia (Kim et al., 2001);
- glr3.1* – ma zaburzony wzrost wierzchołkowy korzeni ryżu (Li et al., 2006); nadekspresja *GLR3.1* u *Arabidopsis* zaburza funkcjonowanie komórek szparkowych (Cho et al., 2009).

Skuteczną alternatywą w kontynuacji badań nad fizjologiczną rolą GLR wydaje się być zatem generacja podwójnych, potrójnych, poczwórnych (itd.) mutantów. Zgodne z tym założeniem i niezwykle ciekawe z punktu widzenia badań nad pobudliwością roślin pojawiły się ostatnio dwa doniesienia (tej samej grupy naukowej) z podwójnego mutantu *glr3.3glr3.6* u *Arabidopsis*, u którego wykryto zaburzoną transmisję AP wzdłuż wiązek floemu po zastosowaniu bodźców uszkodzeniowych (Mousavi et al., 2013; Salvador-Recatala et al., 2014). Związek generacji AP ze zwiększoną obecnością aminokwasów w apoplacie (czy to na skutek uszkodzenia, czy poprzez omycie rośliny roztworem aminokwasu) został również wykazany przez naszą grupę badawczą, gdzie postulowany udział GLR zachodzi na wczesnym etapie pobudzenia (**Król et al., 2007**; Stolarz et al., 2010a; Stolarz et al., 2010b). Wydaje się bardzo prawdopodobne, że GLR uczestniczą w powstawaniu w pobudliwych komórkach tzw. **potencjału receptorowego**, który – jeśli osiągnie wartość progową – doprowadzi do generacji potencjału czynnościowego (AP).

Zmiany potencjału membranowego wywołane bodźcami biotycznymi

W błonie otaczającej komórki roślinne obecne są różnorodne receptory typu **PRR** /*pathogen related receptors*/ dla **PAMPs** /*pathogen associated molecular patterns*/ i **DAMPs** /*damage associated molecular patterns*/ (Boller and Felix, 2009), które dzięki swej aktywności kinazowej rozpoczynają transdukcję i transmisję sygnału – kaskadową aktywację kolejnych enzymów wiodącą do uruchomienia takich mechanizmów obronnych jak:

- pojawienie się potencjałów czynnościowych, jeśli bodziec zdoła objąć żywe komórki tkanki przewodzącej (rys.1 - badania własne niepublikowane);
- produkcja reaktywnych form tlenu i NO (Dubiella et al., 2013);
- indukcja szlaku kinaz CDPK (Boudsocq et al., 2010) oraz indukcja szlaku kinaz MAPK wiodące do ekspresji genów odpowiedzi immunologicznej, która ma na celu przekierowanie metabolizmu rośliny z fazy „wzrost i rozwój” na fazę „obrona” (Pajerowska-Mukhtar et al., 2012); zwiększa się wówczas stężenie hormonów stresu (ABA, SA, JA, etylen), pojawiają się białka stresu (czynniki transkrypcyjne, białka sygnałowe, PRR, zwiększa się aktywność

monooksygenaz FMO1, PAD3 i enzymów kontrolujących metabolizm ściany komórkowej), następuje produkcja fitoaleksyn i metabolitów wtórnych o działaniu bakteriobójczym, bakteriostatycznym, owadobójczym, a ściana komórkowa ulega wzmocnieniu.

A zatem na końcu kaskady znajdują się czynniki transkrypcji (np. WRKY, TBF1), białka regulatorowe (np. NPR1,2,3,4) oraz białka nieenzymatyczne (np. PGIP, PEP, systemina) i enzymy warunkujące prawidłową odpowiedź immunologiczną (np. kinazy receptorowe FRK, oksydazy, metyltransferazy, glukosyltransferazy, esterazy pektynowe, hydrolazy glukozydowe). Całą tę kaskadę uruchamia natomiast depolaryzacja plazmalemmy będąca efektem aktywacji **kanałów jonowych**. W dwóch pracach eksperymentalnych udało mi się wykazać, że depolaryzacja ta jest nierozzerwalnie związana ze wzrostem stężenia wolnych jonów wapnia w cytoplazmie (Jeworutzki et al., 2010; **Król et al., 2010b**). Także tutaj udział zarówno GLR jak i CNGC (*cyclic nucleotide gated channel*) jest sugerowany jako głównych molekuł zaangażowanych w dokomórkowe przewodzenie Ca^{2+} (Dietrich et al., 2010). Pomimo że konsekwencje wzrostu $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ są dobrze udokumentowane, a badania nad rozszyfrowaniem tzw. „podpisu wapniowego” wydają się być obecnie w fazie szczytowej (Boudsocq and Sheen, 2013), proces aktywacji kanałów jonowych prowadzący do „uwolnienia” jonów wapnia i depolaryzacji błony po rozpoznaniu PAMPs/DAMPs nie został jak dotąd rozszyfrowany. Wiadomo, że wzrost $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ aktywuje m.in. NADPH oksydazę (Kobayashi et al., 2007), której aktywacja jest niezbędna do kontroli kanałów wapniowych w komórkach szparkowych (Klusener et al., 2002), nie jest jednak konieczna do inicjacji odpowiedzi immunologicznej w komórkach mięksiszu (**Król et al., 2010b**). Z dowodów pośrednich wiadomo także, że wzrost $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ jest niezbędny do aktywacji kanałów anionowych (Jeworutzki et al., 2010; **Król et al., 2010b**). Długotrwała depolaryzacja błony komórkowej utrzymująca się przez ok. godzinę nawet po usunięciu podniety (PAMPs/DAMPs) ze środowiska zewnętrznego jest skutkiem wpływu anionów z komórki dzięki aktywacji kilku różnych kanałów anionowych, prawdopodobnie typu **SLAC/SLAH** (*slowly activating anion channel/slowly activating anion channel homologue*) i **QUAC/ALMT** (*quickly activating anion channel/aluminium activated malate transporters*). Najprawdopodobniej dochodzi do fosforylacji kanałów anionowych przez kinazy typu BIK (jak ma to miejsce w przypadku NADPH oksydazy: Kadota et al., 2014; Li et al., 2014) lub OST1 (R. Hedrich – dane niepublikowane), które z kolei uległy fosforylacji przez kinazy receptorowe PRR rozpoznające PAMPs/DAMPs. Choć jony wapnia mogą bezpośrednio aktywować dobrze scharakteryzowane u zwierząt kanały anionowe typu CaCC (*calcium-activated chloride channel*) (Caputo et al., 2008; Schroeder et al., 2008), a istnienie takich kanałów od dawna postulowano u glonów (Beilby, 1984; Beilby, 2007), zaś ostatnio odkryte pojedyncze kopie genów CaCC u *Arabidopsis thaliana*, *Cucumis melo*, *Solanum lycopersicum*, *Vitis vinifera*, *Brachypodium distachyon*, czy *Oryza sativa* wykazują dużą homologię do ich zwierzęcych odpowiedników, to jednak brak jest do dnia dzisiejszego bezpośrednich dowodów na istnienie funkcjonalnych kanałów typu CaCC u roślin.

Odkryte po raz pierwszy w komórkach szparkowych (Negi et al., 2008; Vahisalu et al., 2008) kanały typu SLAC/SLAH (1 – 4) od razu stały się przedmiotem wielu badań

eksperymentalnych (Hedrich et al., 2012). Obecnie wiadomo, że po stronie cytoplazmatycznej zarówno przy końcu N jak i C istnieje wiele miejsc fosforylacji rozpoznawanych przez wiele różnych kinaz: OST1 (Geiger et al., 2009); CPK (Geiger et al., 2011; Mori et al., 2006); CPIK (Laanemets et al., 2013a). Stąd jeden typ kanału może uczestniczyć w „rozpoznawaniu” wielu różnych czynników środowiskowych, a depolaryzacja błony staje się wspólnym schematem. Co więcej, te same kinazy mogą fosforylować różne typy kanałów/enzymów np.: OST1 aktywuje SLAC1 (Brandt et al., 2012), ALMT12 (Imes et al., 2013), NADPH oksydazę (Sirichandra et al., 2009) i być może fosforyluje kanały K_{in} (Laanemets et al., 2013b); CPK21 aktywuje jednocześnie SLAC1 (Geiger et al., 2010) i SLAH3 (Demir et al., 2013). Nic więc dziwnego, że kanały jonowe stają się miejscem konwergencji sygnału, a wykluczenie pojedynczego homologu nie zawsze pociąga za sobą powstanie fenotypu; pojedynczy mutant *slah3* (SLAH3 ulega dominującej ekspresji w komórkach miękiszu) nie wykazuje upośledzonych odpowiedzi na obecność PAMPs (Jeworutzki et al., 2010) i DAMPs (badania własne, niepublikowane); podwójne mutanty (*slac1 slah3*) i potrójne (*slac1 slah3 almt12* oraz *almt12 almt13 almt14*) są obecnie na etapie badań eksperymentalnych (R. Hedrich – praca w przygotowaniu). Z drugiej strony ukazało się ostatnio doniesienie, że nadekspresja SLAC1 sprzyja wzmocnionej odpowiedzi immunologicznej w kulturach tkankowych (Kurusu et al., 2013). Być może stworzenie roślin o zwiększonej ekspresji białek kanałowych przyniesie przełom w badaniach nad ich funkcją w układach natywnych.

Wywołana wpływem anionów depolaryzacja błony (Rys. 1A) pociąga za sobą aktywację napięciowo zależnych kanałów potasowych; ustala się poziom równowagi między wpływem obu jonów (A^- i K^+). Repolaryzacja następuje po ustaniu wpływu A^- przy dalszym wpływie K^+ . Pomimo, że opisany tu mechanizm jonowy do złudzenia przypomina AP, należy wyraźnie podkreślić, że komórki miękiszu nie są pobudliwe; depolaryzacja plazmalemy w odpowiedzi na obecność czynników patogennych nie ulega propagacji, a jej amplituda zależy od „siły bodźca” tj. stężenia PAMPs/DAMPs (Jeworutzki et al., 2010; **Król et al., 2010b**).

Odpowiedzi systemiczne

Jeśli bodziec lokalny zdoła dotrzeć do tkanki przewodzącej (Rys. 1B), może dojść do jej pobudzenia i przekazania informacji o lokalnym zagrożeniu do odległych części rośliny oraz do przygotowania ich do ewentualnej obrony przed rozprzestrzeniającym się patogenem / zagrożeniem. Proces ten zwany nabytą odpornością systemiczną, SAR (*systemic acquired resistance*), rozpoznany w latach 30-tych i intensywnie badany w 80-tych do dziś przyciąga uwagę badaczy, a postulowane czynniki odpowiedzialne za sygnaling systemowy to:

- MeSA, ester metylowy kwasu salicylowego (Shah and Zeier, 2013);
- DA, aldehyd kwasu dehydroabietynowego (Shah and Zeier, 2013);
- G3P, glicerylo-3-fosforan (Chanda et al., 2011; Shah and Zeier, 2013);
- AzA, kwas azelainowy (Shah and Zeier, 2013);
- Pip, kwas pipekolowy, homoprolina – niebiałkowy aminokwas pochodzący z katabolizmu Lys (Návarová et al., 2012; Shah and Zeier, 2013);
- *AtPep1-6*, *Pep13*, *Sys*, *HSys* – endogenne peptydy (Yamaguchi and Huffaker, 2011);

- JA-Ile, ester kwasu jasmonowego i Ile (Koo et al., 2009);
- ROS (Dubiella et al., 2013);
- wzrost pH_{ext} (Felle et al., 2005);
- potencjał wariacyjny, VP (Katicheva et al., 2014; van Bel et al., 2014);
- potencjał czynnościowy, AP (Fromm et al., 2013; **Król et al., 2010a**; van Bel et al., 2014).

*Potencjały czynnościowe u muchołówki (*Dionaea muscipula*)*

Prawie wszystkie komórki pułapki muchołówki są zdolne do generacji AP, jeśli tylko potencjał transmembranowy przekroczy wartość progową (**Król et al., 2010a**; **Król et al., 2012**). APs mogą zostać wywołane zarówno przez bodźce świetlne, termiczne, elektryczne, uszkodzeniowe, czy mechaniczne, jak i po pdaniu substancji odżywczych (**Król et al., 2006**; **Król et al., 2010a**; Scherzer et al., 2013). W tym ostatnim przypadku dochodzi do uruchomienia elektrogennego transportu, czego następstwem jest pobudzenie błony (Rys. 1C). Badanie pobudliwości muchołówki oraz udziału, jaki w jej kontroli sprawują fitochromony (ABA, JA) i COR (*coronatine*, substancja pochodzenia bakteryjnego naśladująca działanie JA-Ile) zaowocowało publikacją (Escalante-Perez et al., 2011). Udało się w niej wykazać, że transmisji AP towarzyszy wytrącenie pułapki z metastabilnego stanu – stąd jej szybkie, trwające ułamek sekundy „kłapięcie” (Forterre et al., 2005), ale pułapka nie jest jeszcze domknięta. „Hermetyczne” zamknięcie następuje w ciągu kilkunastu minut, jeśli krytyczna liczba APs zostanie osiągnięta (**Król et al., 2012**). W tym relatywnie powolnym procesie potencjały czynnościowe mogą zostać „zastąpione” jasmonianem (JA) lub COR (Escalante-Perez et al., 2011).

APs nie tylko synchronizują proces zamykania się pułapki (**Król et al., 2010a**; Król et al., 2012), lecz są także niezbędne do rozpoczęcia procesu trawienia i absorpcji: indukują ekspresję enzymów trawiennych; zwiększają ekspresję transporterów substancji odżywczych (Scherzer et al., 2013). Godnym uwagi jest fakt, że wachlarz białek ulegających sekrecji podczas trawienia zawiera wiele takich, które poza pułapką pełnią funkcje obronne (*pathogenesis-related proteins*). Wydaje się wielce prawdopodobne, że „system trawienny” pułapki wykorzystał do degradacji pożywienia mechanizmy przynależne układowi obronemu roślin (Schulze et al., 2012).

Niewątpliwie wzrost ekspresji genów transporterów substancji odżywczych trzeba przypisać pojawieniu się APs wywołanych mechaniczną stymulacją pułapki (Hedrich – praca w przygotowaniu). Nie obserwuje się go natomiast w korzeniach, gdzie ulegające konstytutywnej ekspresji transportery jonu amonowego (DmAMT1) są zlokalizowane w niepobudliwych komórkach ryzodermy i korteksu (Gao et al., 2014). Jak przy „hermetycznym” domykaniu się pułapki, tak również i w zwiększaniu/inicjacji ekspresji genów sygnałowa rola APs może zostać zastąpiona poprzez podanie fitohormonów (JA) lub ich substytutów (COR), (Scherzer et al., 2013). Wyłania się zatem spójny schemat, w którym generacja potencjałów czynnościowych jest pierwotną odpowiedzią poprzedzającą regulację

hormonalną (Escalante-Perez et al., 2011). Tego rodzaju zależność jest już dobrze udokumentowana w systemach obronnych roślin (Davies, 1987; Mousavi et al., 2013).

C) Wnioski końcowe

Zmiany potencjału transmembranowego w odpowiedzi na zmienne czynniki środowiska są jedną z najwcześniejszych i najszybciej rejestrowanych reakcji biologicznych zachodzących w przeciągu od kilku sekund (bodźce abiotyczne) do kilku minut (bodźce biotyczne) od momentu zadziałania bodźca. O ich wartości sygnałowej pojawia się coraz więcej doniesień naukowych, zaś najczęstszym i najlepiej udokumentowanym jodem zaangażowanym w transmisję sygnału wydaje się być Ca^{2+} (van Bel et al., 2014). Dysponując relatywnie ograniczonym repertuarem kanałów jonowych „zespoliła go ewolucja” z zadziwiającą liczbą procesów percepcji. Możliwe jest to dlatego, że ten sam typ kanału jest regulowany przez liczne i różnorodne białka receptorowe i białka regulatorowe w tkankowo i czasowo zależny sposób. Stały motyw //wewnątrzkomórkowy wzrost stężenia jonów Ca^{2+} → aktywacja kanałów anionowych → aktywacja kanałów potasowych// pojawia się w większości rejestrowanych przypadków (van Bel et al., 2014) i tylko ko-lokalizacja pozostałych struktur tak zwanego **sygnalosu** lub jego gęstość w błonie będzie decydować o formie, zakresie, czy możliwości rozprzestrzeniania się wywołanej zmiany potencjału transmembranowego.

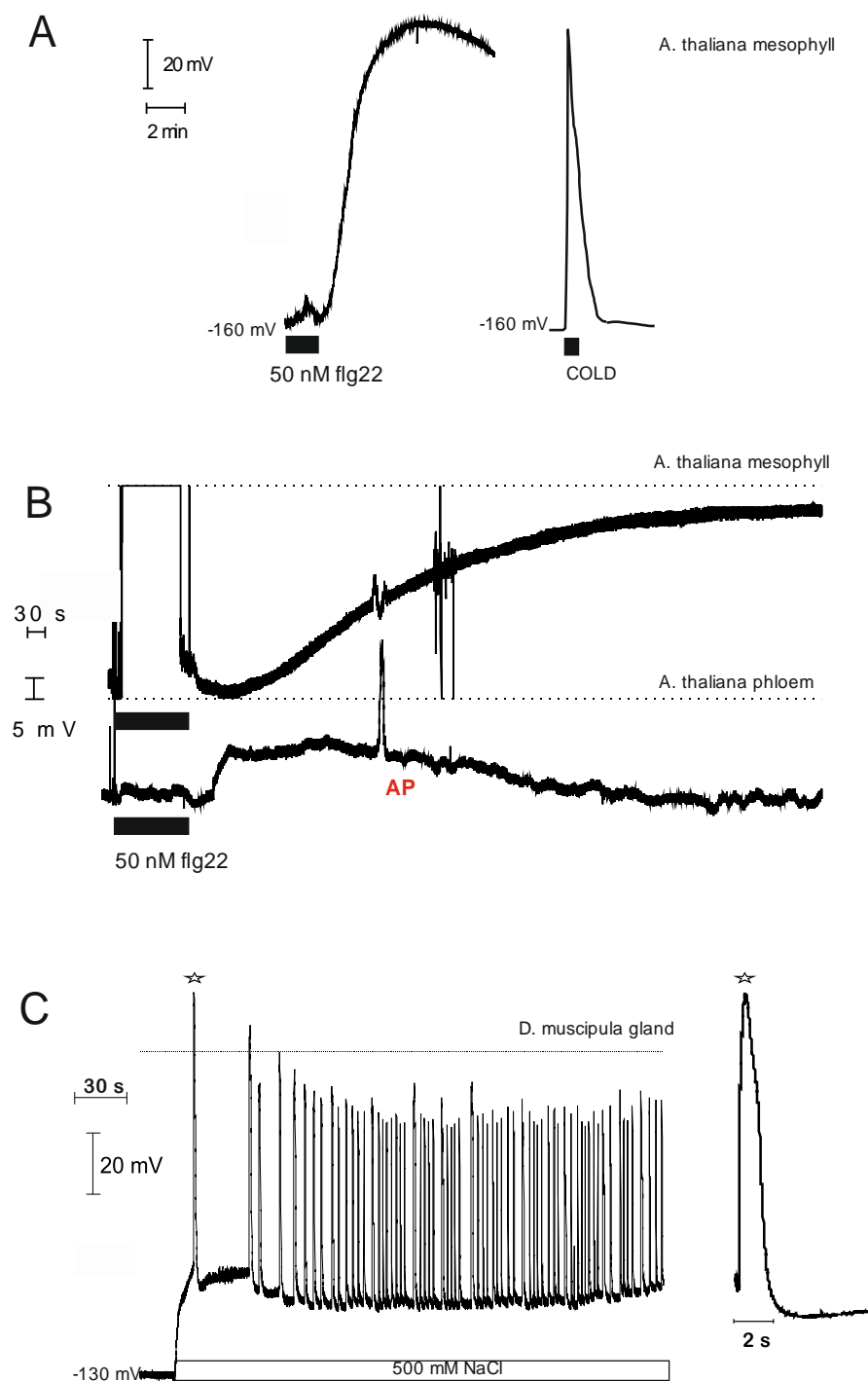
Omówione w niniejszej rozprawie doniesienia literaturowe dotyczą wyłącznie zmian pojawiających się na plazmalemmie. Skomplikowany proces „współgrania” transmembranowych białek plazmalemmy ze strukturami błon wewnątrzkomórkowych (ER, tonoplast, chloroplast) podczas percepcji bodźca lub pobudzenia jak dotąd został rozpoznany tylko u roślin niższych i dotyczy głównie badań nad pobudliwością tonoplastu (Beilby, 2007). Poznanie roli czynników cytoplazmatycznych w kontroli potencjałów transmembranowych zarówno plazmalemmy jak i błon wewnątrzkomórkowych stanowi obecnie ogromne wyzwanie.

D) Plany na przyszłość

Bardzo różne w swej naturze bodźce biotyczne (np. organizmy patogenne, symbiotyczne, pożywienie, substancje hormonalne) i abiotyczne (np. światło, zimno, stres solny, zranienie) są odbierane przez różnorodne receptory o odmiennej lokalizacji (apoplast, błony komórkowe lub wewnątrzkomórkowe, cytoplazma). Jeśli jednak percepcja bodźca wiąże się ze zmianą potencjału transmembranowego (rys. 1), oznacza to, że pomiędzy receptorem a kanałami/transporterami/pompami istnieje fizyczny związek, nawet jeśli trwa on tylko „przez chwilę”, np. w momencie stymulacji lub za pośrednictwem zmieniających swą lokalizację cytoplazmatycznych partnerów (enzymy, białka kotwiczące, białka 14-3-3). Koegzystencja wszystkich uczestników w obrębie sygnałosu jest faktem niezaprzeczalnym. Badaniem tak nietrywialnych do uchwycenia sprzężeń //kanał/transporter/pompa – receptor// i //kanał/transporter/pompa – cytoplazmatyczny efektor// za pomocą technik biomolekularnych (Y2H, SU) i bio-optycznych (BiFC, FRET) chciałabym się zająć w najbliższej przyszłości. Szczególną uwagę chciałabym poświęcić odpowiedziom immunologicznym. Niezwykle ciekawy do rozszyfrowania jawi mi się proces aktywacji kanałów jonowych po związaniu PAMP z właściwym receptorem PRR.

W latach 90-tych, gdy molekularne podłoże potencjałów czynnościowych u zwierząt było już odpowiednio dobrze scharakteryzowane, udało się wywołać serie AP w niepobudliwych komórkach CHO (Chinese hamster ovary), stransformowanych genami kanałów sodowych i potasowych typu *Shaker* (Hsu et al., 1993). Podobny eksperyment chciałabym przeprowadzić z kanałami jonowymi wyizolowanymi z pobudliwych komórek pułapki muchołówki. Relatywnie wysoki poziom ich ekspresji w porównaniu do tkanek niepobudliwych (R. Hedrich – badania własne niepublikowane) może świadczyć o ich zaangażowaniu w propagację APs. W celu sprawdzenia poprawności powyższego założenia chciałabym stransformować komórki skórki i mięksizu liści tytoniu (transformacja *Agrobacterium*) odpowiednimi homologami kanałów anionowych i potasowych - DmALMT1 i DmGORK, po czym poddać liść badaniom elektrofizjologicznym przy użyciu techniki mikroelektrodowej (rejestracja AP po stymulacji elektrycznej).

DmAMT1 oraz DmHKT1 to dwa transportery wyizolowane z komórek gruczołowych muchołówki, które są odpowiedzialne za ułatwioną dyfuzję dodatnio naładowanych jonów (NH_4^+ oraz Na^+). Ponieważ zmiana konformacji z „zamkniętej” na „otwartą” zachodzi tylko w obecności substratu, na powierzchni tych transporterów muszą znajdować się struktury (aminokwasy) zaangażowane w jego rozpoznanie. Opierając się na dostępnych danych literaturowych (homologi obu transporterów zostały sklonowane u bakterii, drożdży, zwierząt i roślin) oraz przy użyciu metody selektywnej mutagenyzy chciałabym zidentyfikować miejsce(a) rozpoznające substrat. Planowana mutagenyza umożliwiła m.in. ustalenie aminokwasów zaangażowanych w „filtr selektywności” (Cotsaftis et al., 2012; Horie et al., 2009), „bramkowanie” – miejsce wiązania czynników regulatorowych (Oomen et al., 2012), czy też miejsce tworzenia czynnego trimery (Neuhäuser et al., 2009; Neuhäuser et al., 2007) u traw i roślin dwuliściennych. Podobne analizy chciałabym przeprowadzić u muchołówki.



Rys. 1. Depolaryzacja błony jako natychmiastowa odpowiedź na zmiany w środowisku zewnętrznym (pomiar własny): **A)** obecność czynników patogennych wywołuje w niebudliwej komórce mięksiszowej długotrwałą depolaryzację; poddanie tej samej komórki spadkowi temperatury wywołuje depolaryzację o porównywalnej amplitudzie, lecz znacząco krótszym czasie trwania; obraz zapisu dwóch różnych zmian potencjału odzwierciedla fakt, że za generację tych zmian odpowiedzialne są różne mechanizmy jonowe; **B)** równoległa rejestracja depolaryzacji w niebudliwej komórce miększa (rejestracja wewnątrzkomórkowa, zapis górny) vs AP w wiązce przewodzącej (rejestracja zewnątrzkomórkowa, zapis dolny) po podaniu 50 nM flg22; **C)** seria APs wywołana napływem jonów Na^+ do pobudliwej komórki gruczołowej muchołówki.

Literatura:

- Beilby M. J., 1984. Calcium and plant action potentials. *Plant Cell Environ* 7, 415-421.
- Beilby M. J., 2007. Action potential in charophytes. *Int Rev Cytol* 257, 43-82.
- Boller T. and Felix G., 2009. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annu Rev Plant Biol* 60, 379-406.
- Boudsocq M. and Sheen J., 2013. CDPKs in immune and stress signaling. *Trends Plant Sci* 18, 30-40.
- Boudsocq M., Willmann M. R., McCormack M., Lee H., Shan L., He P., Bush J., Cheng S. H. and Sheen J., 2010. Differential innate immune signalling via Ca²⁺ sensor protein kinases. *Nature* 464, 418-422.
- Brandt B., Brodsky D. E., Xue S., Negi J., Iba K., Kangasjarvi J., Ghassemian M., Stephan A. B., Hu H. and Schroeder J. I., 2012. Reconstitution of abscisic acid activation of SLAC1 anion channel by CPK6 and OST1 kinases and branched ABI1 PP2C phosphatase action. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109, 10593-8.
- Caputo A., Caci E., Ferrera L., Pedemonte N., Barsanti C., Sondo E., Pfeffer U., Ravazzolo R., Zegarra-Moran O. and Galletta L. J., 2008. TMEM16A, a membrane protein associated with calcium-dependent chloride channel activity. *Science* 322, 590-594.
- Carpaneto A., Ivashikina N., Levchenko V., Krol E., Jeworutzki E., Zhu J.-K. and Hedrich R., 2007. Cold transiently activates calcium-permeable channels in *Arabidopsis* mesophyll cells. *Plant Physiol* 143, 487-494.
- Chanda B., Xia Y., Mandal M. K., Yu K., Sekine K. T., Gao Q. M., Selote D., Hu Y., Stromberg A., Navarre D., Kachroo A. and Kachroo P., 2011. Glycerol-3-phosphate is a critical mobile inducer of systemic immunity in plants. *Nat Genet* 43, 421-427.
- Chiu J. C., Brenner E. D., DeSalle R., Nitabach M. N., Holmes T. C. and Coruzzi G. M., 2002. Phylogenetic and expression analysis of the glutamate-receptor-like gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Biol Evol* 19, 1066-1082.
- Cho D., Kim S., Murata Y., Lee S., Jae S., Nam H. and Kwak J., 2009. De-regulated expression of the plant glutamate receptor homolog *AtGLR3.1* impairs long-term Ca²⁺-programmed stomatal closure. *Plant J* 58, 437-449.
- Cotsaftis O., Plett D., Shirley N., Tester M. and Hrmova M., 2012. A two-staged model of Na⁺ exclusion in rice explained by 3D modeling of HKT transporters and alternative splicing. *PLoS One* 7, e39865.
- Davies E., 1987. Action potentials as multifunctional signals in plants: a unifying hypothesis to explain apparently disparate wound responses. *Plant Cell Environ* 10, 623-631.
- Demir F., Horntrich C., Blachutzik J. O., Scherzer S., Reinders Y., Kierszniowska S., Schulze W. X., Harms G. S., Hedrich R., Geiger D. and Kreuzer I., 2013. *Arabidopsis* nanodomain-delimited ABA signaling pathway regulates the anion channel SLAH3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 8296-8301.
- Dietrich P., Anschutz U., Kugler A. and Becker D., 2010. Physiology and biophysics of plant ligand-gated ion channels. *Plant Biol (Stuttg)* 12 Suppl 1, 80-93.
- Dubiella U., Seybold H., Durian G., Komander E., Lassig R., Witte C. P., Schulze W. X. and Romeis T., 2013. Calcium-dependent protein kinase/NADPH oxidase activation circuit is required for rapid defense signal propagation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 8744-8749.
- Escalante-Perez M., Krol E., Stange A., Geiger D., Al-Rasheid K. A., Hause B., Neher E. and Hedrich R., 2011. A special pair of phytohormones controls excitability, slow closure, and external stomach formation in the Venus flytrap. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 15492-15497.

- Favre P., Król E., Stolarz M., Szarek I., Greppin H., Trębacz K. and Degli Agosti R., 1999. Action potentials elicited in the liverwort *Conocephalum conicum* with different stimuli Archs Sci Geneve 52, 175-185.
- Felle H. H., Herrmann A., Huckelhoven R. and Kogel K. H., 2005. Root-to-shoot signalling: apoplastic alkalization, a general stress response and defence factor in barley (*Hordeum vulgare*). Protoplasma 227, 17-24.
- Forterre Y., Skotheim J. M., Dumais J. and Mahadevan L., 2005. How the Venus flytrap snaps. Nature 433, 421-425.
- Fromm J., Hajirezaei M. R., Becker V. K. and Lautner S., 2013. Electrical signaling along the phloem and its physiological responses in the maize leaf. Frontiers in plant science 4, 239.
- Gao P., Löffler T. S., Honsel A., Król E., Scherzer S., Kreuzer I., Bemm F., Buegger F., Burzlaff T., Hedrich R., Rennenberg H. and Kruse J., 2014. Integration of trap- and root-derived nitrogen nutrition of carnivorous *Dionaea muscipula*. New Phytol (in press).
- Geiger D., Maierhofer T., Al-Rasheid K. A., Scherzer S., Mumm P., Liese A., Ache P., Wellmann C., Marten I., Grill E., Romeis T. and Hedrich R., 2011. Stomatal closure by fast abscisic acid signaling is mediated by the guard cell anion channel SLAH3 and the receptor RCAR1. Sci Signal 4, ra32.
- Geiger D., Scherzer S., Mumm P., Marten I., Ache P., Matschi S., Liese A., Wellmann C., Al-Rasheid K. A., Grill E., Romeis T. and Hedrich R., 2010. Guard cell anion channel SLAC1 is regulated by CDPK protein kinases with distinct Ca²⁺ affinities. Proc Natl Acad Sci U S A 107, 8023-8028.
- Geiger D., Scherzer S., Mumm P., Stange A., Marten I., Bauer H., Ache P., Matschi S., Liese A., Al-Rasheid K. A., Romeis T. and Hedrich R., 2009. Activity of guard cell anion channel SLAC1 is controlled by drought-stress signaling kinase-phosphatase pair. Proc Natl Acad Sci U S A 106, 21425-21430.
- Hedrich R., 2012. Ion channels in plants. Physiol Rev 92, 1777-1811.
- Hedrich R., Becker D., Geiger D., Marten I. and Roelfsema M. R., 2012. Role of Ion Channels in Plants. In Okada Y. (Ed.), Springer Japan, pp. 295-322.
- Horie T., Hauser F. and Schroeder J. I., 2009. HKT transporter-mediated salinity resistance mechanisms in *Arabidopsis* and monocot crop plants. Trends Plant Sci 14, 660-668.
- Hsu H., Huang E., Yang X. C., Karschin A., Labarca C., Figl A., Ho B., Davidson N. and Lester H. A., 1993. Slow and incomplete inactivations of voltage-gated channels dominate encoding in synthetic neurons. Biophys J 65, 1196-206.
- Imes D., Mumm P., Bohm J., Al-Rasheid K. A., Marten I., Geiger D. and Hedrich R., 2013. Open stomata 1 (OST1) kinase controls R-type anion channel QUAC1 in *Arabidopsis* guard cells. Plant J 74, 372-382.
- Jeworutzki E., Roelfsema M. R. G., Anschutz U., Krol E., Elzenga J. T. M., Felix G., Boller T., Hedrich R. and Becker D., 2010. Early signaling through the *Arabidopsis* pattern recognition receptors FLS2 and EFR involves Ca²⁺-associated opening of plasma membrane anion channels. Plant J 62, 367 – 378.
- Kadota Y., Sklenar J., Derbyshire P., Stransfeld L., Asai S., Ntoukakis V., Jones Jonathan D., Shirasu K., Menke F., Jones A. and Zipfel C., 2014. Direct Regulation of the NADPH Oxidase RBOHD by the PRR-Associated Kinase BIK1 during Plant Immunity. Molecular Cell 54, 43-55.
- Kang J., Mehta S. and Turano F. J., 2004. The putative *glutamate receptor 1.1* (*AtGLR1.1*) in *Arabidopsis thaliana* regulates abscisic acid biosynthesis and signaling to control development and water loss. Plant Cell Physiol 45, 1380-1389.


- Katicheva L., Sukhov V., Akinchits E. and Vodeneev V., 2014. Ionic nature of burn-induced variation potential in wheat leaves. *Plant Cell Physiol* 55, 1511-1519.
- Kim S. A., Kwak J. M., Jae S. K., Wang M. H. and Nam H. G., 2001. Overexpression of the *AtGluR2* gene encoding an *Arabidopsis* homolog of mammalian glutamate receptors impairs calcium utilization and sensitivity to ionic stress in transgenic plants. *Plant Cell Physiol* 42, 74-84.
- Klusener B., Young J. J., Murata Y., Allen G. J., Mori I. C., Hugouvieux V. and Schroeder J. I., 2002. Convergence of calcium signaling pathways of pathogenic elicitors and abscisic acid in *Arabidopsis* guard cells. *Plant Physiol* 130, 2152-2163.
- Knight H., Trewavas A. J. and Knight M. R., 1996. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation. *Plant Cell* 8, 489-503.
- Knight M. R., 2002. Signal transduction leading to low-temperature tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 357, 871-875.
- Kobayashi M., Ohura I., Kawakita K., Yokota N., Fujiwara M., Shimamoto K., Doke N. and Yoshioka H., 2007. Calcium-dependent protein kinases regulate the production of reactive oxygen species by potato NADPH oxidase. *The Plant cell* 19, 1065-1080.
- Konrad K. R. and Hedrich R., 2008. The use of voltage-sensitive dyes to monitor signal-induced changes in membrane potential-ABA triggered membrane depolarization in guard cells. *Plant J* 55, 161-73.
- Koo A. J. K., Gao X., Daniel Jones A. and Howe G. A., 2009. A rapid wound signal activates the systemic synthesis of bioactive jasmonates in *Arabidopsis*. *Plant J* 59, 974-986.
- Koselski M., Trębacz K., Dziubińska H. and Król E., 2008. Light- and dark-induced action potentials in *Physcomitrella patens*. *Plant Signal Behav* 3, 13-18.
- Król E., Dziubińska H., Stolarz M. and Trębacz K., 2006. Effects of ion channel inhibitors on cold- and electrically-induced action potentials in *Dionaea muscipula*. *Biol Plant* 50, 411-416.
- Król E., Dziubińska H., Stolarz M., Trębacz K. and Filek M., 2005. Different responses to cold recorded in spring and winter varieties of rape (*Brassica napus* L var. oleifera), *Book of Abstracts: p.74, Florence, Italy.*
- Król E., Dziubińska H. and Trębacz K., 2003. Low-temperature induced transmembrane potential changes in the liverwort *Conocephalum conicum*. *Plant Cell Physiol* 44, 527-533.
- Król E., Dziubińska H. and Trębacz K., 2004. Low-temperature-induced transmembrane potential changes in mesophyll cells of *Arabidopsis thaliana*, *Helianthus annuus* and *Vicia faba*. *Physiol Plant* 120, 265-270.
- Król E., Dziubińska H. and Trębacz K., 2010a. What do plants need action potentials for? In DuBois M. L. (Ed.), *Nova Scienc Publishers*, p. 1-26, NY.
- Król E., Dziubińska H., Trębacz K., Koselski M. and Stolarz M., 2007. The influence of glutamic and aminoacetic acids on the excitability of the liverwort *Conocephalum conicum*. *J Plant Physiol* 164, 773-784.
- Król E., Mentzel T., Chinchilla D., Boller T., Felix G., Kemmerling B., Postel S., Arents M., Jeworutzki E., Al-Rasheid K. A. S., Becker D. and Hedrich R., 2010b. Perception of the *Arabidopsis* danger signal peptide 1 involves the pattern recognition receptor *AtPEPR1* and its close homologue *AtPEPR2*. *J Biol Chem* 285, 13471-13479.
- Król E., Płachno B. J., Adamec L., Stolarz M., Dziubińska H. and Trębacz K., 2012. Quite a few reasons for calling carnivores 'the most wonderful plants in the world'. *Ann Bot* 109, 47-64.

- Król E. and Trębacz K., 1999. Calcium-dependent voltage transients evoked by illumination in the liverwort *Conocephalum conicum*. *Plant Cell Physiol* 40, 17-24.
- Król E. and Trębacz K., 2000. Ways of ion channel gating in plant cells. *Ann Bot* 86, 449-469.
- Kurusu T., Saito K., Horikoshi S., Hanamata S., Negi J., Yagi C., Kitahata N., Iba K. and Kuchitsu K., 2013. An S-type anion channel SLAC1 is involved in cryptogein-induced ion fluxes and modulates hypersensitive responses in tobacco BY-2 cells. *PLoS ONE* 8, e70623.
- Laanemets K., Brandt B., Li J., Merilo E., Wang Y. F., Keshwani M. M., Taylor S. S., Kollist H. and Schroeder J. I., 2013a. Calcium-dependent and -independent stomatal signaling network and compensatory feedback control of stomatal opening *via* Ca^{2+} sensitivity priming. *Plant Physiol* 163, 504-513.
- Laanemets K., Wang Y. F., Lindgren O., Wu J., Nishimura N., Lee S., Caddell D., Merilo E., Brosche M., Kilk K., Soomets U., Kangasjarvi J., Schroeder J. I. and Kollist H., 2013b. Mutations in the SLAC1 anion channel slow stomatal opening and severely reduce K^+ uptake channel activity *via* enhanced cytosolic $[\text{Ca}^{2+}]$ and increased Ca^{2+} sensitivity of K^+ uptake channels. *New Phytol* 197, 88-98.
- Lewis B. D., Karlin-Neumann G., Davis R. W. and Spalding E. P., 1997. Ca^{2+} -activated anion channels and membrane depolarizations induced by blue light and cold in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiol* 114, 1327-1334.
- Li J., Zhu S., Song X., Shen Y., Chen H., Yu J., Yi K., Liu Y., Karplus V. J., Wu P. and Deng X. W., 2006. A rice glutamate receptor-like gene is critical for the division and survival of individual cells in the root apical meristem. *Plant Cell* 18, 340-349.
- Li L., Li M., Yu L., Zhou Z., Liang X., Liu Z., Cai G., Gao L., Zhang X., Wang Y., Chen S. and Zhou J. M., 2014. The FLS2-associated kinase BIK1 directly phosphorylates the NADPH oxidase RbohD to control plant immunity. *Cell Host Microbe* 15, 329-338.
- Meyerhoff O., Muller K., Roelfsema M. R., Latz A., Lacombe B., Hedrich R., Dietrich P. and Becker D., 2005. *AtGLR3.4*, a glutamate receptor channel-like gene is sensitive to touch and cold. *Planta* 222, 418-427.
- Michard E., Lima P. T., Borges F., Silva A. C., Portes M. T., Carvalho J. E., Gilliam M., Liu L. H., Obermeyer G. and Feijo J. A., 2011. Glutamate receptor-like genes form Ca^{2+} channels in pollen tubes and are regulated by pistil D-serine. *Science* 332, 434-437.
- Miller N. D., Durham Brooks T. L., Assadi A. H. and Spalding E. P., 2010. Detection of a gravitropism phenotype in glutamate receptor-like 3.3 mutants of *Arabidopsis thaliana* using machine vision and computation. *Genetics* 186, 585-593.
- Mori I. C., Murata Y., Yang Y., Munemasa S., Wang Y. F., Andreoli S., Tiriach H., Alonso J. M., Harper J. F., Ecker J. R., Kwak J. M. and Schroeder J. I., 2006. CDPKs CPK6 and CPK3 function in ABA regulation of guard cell S-type anion- and Ca^{2+} -permeable channels and stomatal closure. *PLoS Biol* 4, e327.
- Mousavi S. A., Chauvin A., Pascaud F., Kellenberger S. and Farmer E. E., 2013. GLUTAMATE RECEPTOR-LIKE genes mediate leaf-to-leaf wound signalling. *Nature* 500, 422-426.
- Návarová H., Bernsdorff F., Döring A.-C. and Zeier J., 2012. Pipecolic acid, an endogenous mediator of defense amplification and priming, is a critical regulator of inducible plant immunity. *Plant Cell* 24, 5123-5141.
- Negi J., Matsuda O., Nagasawa T., Oba Y., Takahashi H., Kawai-Yamada M., Uchimiya H., Hashimoto M. and Iba K., 2008. CO_2 regulator SLAC1 and its homologues are essential for anion homeostasis in plant cells. *Nature* 452, 483-486.
- Neuhäuser B., Dynowski M. and Ludewig U., 2009. Channel-like NH_3 flux by ammonium transporter *AtAMT2*. *FEBS Lett* 583, 2833-2838.

- Neuhäuser B., Dynowski M., Mayer M. and Ludewig U., 2007. Regulation of NH_4^+ transport by essential cross talk between AMT monomers through the carboxyl tails. *Plant Physiol* 143, 1651-1659.
- Oomen R. J. F. J., Benito B., Sentenac H., Rodríguez-Navarro A., Talón M., Véry A.-A. and Domingo C., 2012. HKT2;2/1, a K^+ -permeable transporter identified in a salt-tolerant rice cultivar through surveys of natural genetic polymorphism. *The Plant Journal*, doi: 10.1111/j.1365-313X.2012.05031.x.
- Pajeroska-Mukhtar K. M., Wang W., Tada Y., Oka N., Tucker C. L., Fonseca J. P. and Dong X., 2012. The HSF-like transcription factor TBF1 is a major molecular switch for plant growth-to-defense transition. *Curr Biol* 22, 103-112.
- Plieth C., Hansen U. P., Knight H. and Knight M. R., 1999. Temperature sensing by plants: the primary characteristics of signal perception and calcium response. *Plant J* 18, 491-497.
- Qi Z., Stephens N. R. and Spalding E. P., 2006. Calcium entry mediated by GLR3.3, an *Arabidopsis* glutamate receptor with a broad agonist profile. *Plant Physiol* 142, 963-971.
- Roy S. J., Gilliam M., Berger B., Essah P. A., Cheffings C., Miller A. J., Davenport R. J., Liu L. H., Skynner M. J., Davies J. M., Richardson P., Leigh R. A. and Tester M., 2008. Investigating glutamate receptor-like gene co-expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ* 31, 861-871.
- Salvador-Recatala V., Tjallingii W. F. and Farmer E. E., 2014. Real-time, *in vivo* intracellular recordings of caterpillar-induced depolarization waves in sieve elements using aphid electrodes. *New Phytol* 203, 674-684.
- Scherzer S., Krol E., Kreuzer I., Kruse J., Karl F., von Rüden M., Escalante-Perez M., Müller T., Rennenberg H., Al-Rasheid Khaled A. S., Neher E. and Hedrich R., 2013. The *Dionaea muscipula* ammonium channel *DmAMT1* provides NH_4^+ uptake associated with Venus flytrap's prey digestion. *Current biology : CB* 23, 1649-1657.
- Schroeder B. C., Cheng T., Jan Y. N. and Jan L. Y., 2008. Expression cloning of TMEM16A as a calcium-activated chloride channel subunit. *Cell* 134, 1019-1029.
- Schulze W. X., Sanggaard K. W., Kreuzer I., Knudsen A. D., Bemm F., Thogersen I. B., Brautigam A., Thomsen L. R., Schliesky S., Dyrland T. F., Escalante-Perez M., Becker D., Schultz J., Karring H., Weber A., Hojrup P., Hedrich R. and Enghild J. J., 2012. The protein composition of the digestive fluid from the Venus flytrap sheds light on prey digestion mechanisms. *Molecular & cellular proteomics : MCP* 11, 1306-1319.
- Shah J. and Zeier J., 2013. Long-distance communication and signal amplification in systemic acquired resistance. *Frontiers in plant science* 4, 30.
- Sirichandra C., Gu D., Hu H. C., Davanture M., Lee S., Djaoui M., Valot B., Zivy M., Leung J., Merlot S. and Kwak J. M., 2009. Phosphorylation of the *Arabidopsis* AtrbohF NADPH oxidase by OST1 protein kinase. *FEBS Lett* 583, 2982-2986.
- Stolarz M., Krol E. and Dziubinska H., 2010a. Glutamate elements in an excitability and circumnutation mechanism. *Plant Signal Behav* 5, 1108-1111.
- Stolarz M., Król E., Dziubińska H. and Kurenda A., 2010b. Glutamate induces series of action potentials and a decrease in circumnutation rate in *Helianthus annuus*. *Physiol Plant* 138, 329-338.
- Tapken D., Anschutz U., Liu L.-H., Huelsken T., Seeböhm G., Becker D. and Hollmann M., 2013. A plant homolog of animal glutamate receptors is an ion channel gated by multiple hydrophobic amino acids. *Sci Signal* 6, ra47.
- Tapken D. and Hollmann M., 2008. *Arabidopsis thaliana* glutamate receptor ion channel function demonstrated by ion pore transplantation. *J Mol Biol* 383, 36-48.

- Thiel G. and Dityatev A. E., 1998. Transient activity of excitatory Cl^- channels in *Chara*: Evidence for quantal release of a gating factor. *J Membr Biol* 163, 183-191.
- Trębacz K., Simonis W. and Schönknecht G., 1997. Effects of Anion Channel Inhibitors on Light-Induced Potential Changes in the Liverwort *Conocephalum conicum*. *Plant Cell Physiol* 38, 550-557.
- Vahisalu T., Kollist H., Wang Y. F., Nishimura N., Chan W. Y., Valerio G., Lamminmaki A., Brosche M., Moldau H., Desikan R., Schroeder J. I. and Kangasjarvi J., 2008. SLAC1 is required for plant guard cell S-type anion channel function in stomatal signalling. *Nature* 452, 487-491.
- van Bel A. J., Furch A. C., Will T., Buxa S. V., Musetti R. and Hafke J. B., 2014. Spread the news: systemic dissemination and local impact of Ca^{2+} signals along the phloem pathway. *J Exp Bot* 65, 1761-1787.
- Vincill E. D., Bieck A. M. and Spalding E. P., 2012. Ca^{2+} conduction by an amino acid-gated ion channel related to glutamate receptors. *Plant Physiol* 159, 40-46.
- Vincill E. D., Clarin A. E., Molenda J. N. and Spalding E. P., 2013. Interacting glutamate receptor-like proteins in phloem regulate lateral root initiation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 25, 1304-1313.
- Xiong T. C., Ronzier E., Sanchez F., Corratge-Faillie C., Mazars C. and Thibaud J. B., 2014. Imaging long distance propagating calcium signals in intact plant leaves with the BRET-based GFP-aequorin reporter. *Frontiers in plant science* 5, 43.
- Xue S., Yao X., Luo W., Jha D., Tester M., Horie T. and Schroeder J. I., 2011. AtHKT1;1 mediates nernstian sodium channel transport properties in *Arabidopsis* root stelar cells. *PLoS One* 6, e24725.
- Yamaguchi Y. and Huffaker A., 2011. Endogenous peptide elicitors in higher plants. *Curr Opin Plant Biol* 14, 351-357.
- Yan X., Wang Z., Huang L., Wang C., Hou R., Xu Z. and Qiao X., 2009. Research progress on electrical signals in higher plants. *Prog Nat Sci* 19, 531-541.

Lublin, 13.01.2015
(Place, date)



(Applicant's signature)

WYKAZ OSIĄGNIĘĆ W PRACY NAUKOWO-BADAWCZEJ

z wyłączeniem prac wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej

A. PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

Tabela 2

Lp.	Dane bibliograficzne	IF *	Punkty MNiSW **	Średnia liczba cyt/rok ***
1 ^e	Król E. , Trębacz K. (1999) <i>Calcium-dependent Voltage Transients evoked by illumination in the liverwort <i>Conocephalum conicum</i></i> Plant Cell Physiol 40: p.17	2,22	35	1,00
2 ^e	Favre P., Król E. , Stolarz M., Szarek I., Greppin H., Trębacz K., Degli Agosti R. (1999) <i>Action potentials elicited in the liverwort <i>Conocephalum conicum</i> with different stimuli</i> Archives des Sciences - Geneve 52: p.175	0,25	20	0,31
3 ^e	Pawlikowska-Pawłęga B., Trębacz K., Król E. , Gawron A. (2000) <i>Effects of quercetin and verapamil on membrane potential in the liverwort <i>Conocephalum conicum</i></i> Acta Physiol Plant 22: p.61	1,31	25	0,07
4 ^p	Król E. , Trębacz K. (2000) <i>Ways of ion channel gating in plant cells.</i> Ann Bot 86: p.449	4,03	40	2,33
5 ^e	Król E. , Dziubińska H., Trębacz K. (2003) <i>Low-temperature induced transmembrane potential changes in the liverwort <i>Conocephalum conicum</i></i> Plant Cell Physiol 44: p.527	3,20	35	2,00
6 ^e	Król E. , Dziubińska H., Trębacz K. (2004) <i>Low-temperature induced transmembrane potential changes in mesophyll cells of <i>Arabidopsis thaliana</i>, <i>Helianthus annuus</i> and <i>Vicia faba</i></i> Physiol Plant 120: pp.265-270	3,06	35	2,00

B. PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

Tabela 2 (kontynuacja)

Lp.	Dane bibliograficzne	IF *	Punkty MNiSW **	Średnia liczba cyt/rok ***
7 ^p	Król E. , Dziubińska H., Stolarz M., Trębacz K., (2004) <i>Examination of changes in membrane potential in plants IV</i> Konferencja Techniki Elektrofizjologiczne w Badaniach Zjawisk Bioelektrycznych: od kanałów jonowych po sieci neuronalne; M.H. Lewandowski (Ed); Inst. Zoologii UJ, Kraków; p.93	0	2	0
8 ^p	Trębacz K., Dziubińska H., Król E. , (2006) <i>Electrical Signals in Long-Distance Communication in Plants</i> in Communication in Plants, F. Baluska, S. Mancuso, D. Volkmann (Eds.); Springer-Verlag: Berlin Heidelberg; pp:	0	7	2,89

	277			
9 ^p	Król E., Dziubińska H., Stolarz M., Trębacz K., (2006) <i>Glutamate receptors in plants</i> V Konferencja Techniki Elektrofizjologiczne w Badaniach Zjawisk Bioelektrycznych: od kanałów jonowych po sieci neuronalne; Acta Universitatis Lodziensis. Folia Biologica et Oecologica. Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego; p. 67	0	2	0
10 ^e	Carpaneto A., Ivashikina N., Levchenko V., Król E., Jeworutzki E., Zhu J.-K., Hedrich R. (2007) <i>Cold transiently activates calcium-permeable channels in Arabidopsis mesophyll cells</i> Plant Physiol 143: pp.48-494	4,00	45	5,00
11 ^e	Pawlikowska-Pawłęga B., Trębacz K., Król E., Gawron A. (2007) <i>The influence of apigenin on membrane and action potential in the liverwort Conocephalum conicum</i> Acta Physiol Plant 29: p.143	0,81	25	0,5
12 ^e	Dziubińska H., Filek M., Król E., Trębacz K. (2008) <i>Slow vacuolar channels from winter and spring varieties of rape (Brassica napus)</i> J Plant Physiol 165: p.1511	2,77 ^b	35	0,14
13 ^e	Stolarz M., Król E., Dziubińska H., Trębacz K. (2008) <i>Complex relationship between growth and circumnutations in Helianthus annuus stem</i> Plant Signaling Behavior 3: p.376	0	2	0,29
14 ^e	Koselski M., Trębacz K., Dziubińska H., Król E. (2008) <i>Light- and dark-induced action potentials in Physcomitrella patens</i> Plant Signaling Behavior 3: p.13	0	2	0,43
15 ^e	Pawlikowska-Pawłęga B., Król E., Trębacz K., Gawron A. (2009) <i>Genistein-induced membrane and action potential changes in the liverwort Conocephalum conicum</i> J Plant Physiol 166: p.712	2,77 ^b	35	0,50
16 ^e	Jeworutzki E., Roelfsema M.R.G., Anschütz U., Król E., Arents M., Elzenga J.T.M., Felix G., Boller T., Hedrich R., Becker D. (2010) <i>Early signalling through the Arabidopsis pattern recognition receptors FLS2 and EFR leads to Ca²⁺-associated opening of plasma membrane anion channels</i> Plant J 62: p.367-378	6,33	45	9,60
17 ^e	Stolarz M., Król E., Dziubińska H., Kurenda A. (2010) <i>Glutamate induces series of action potentials and a decrease in circumnutation rate in Helianthus annuus</i> Physiol Plant 138: p.329	3,66	35	0,40
18 ^e	Stolarz M., Król E., Dziubińska H. (2010) <i>Glutamatergic elements in excitability and circumnutation mechanism</i> Plant Signaling Behavior 5: p.1108	0	2	0,17
19 ^e	Dziubińska H., Filek M., Król E., Trębacz K. (2010) <i>Cadmium and Selenium modulate slow vacuolar channels in rape (Brassica napus) vacuoles</i> J Plant Physiol 167: p.1566	2,77 ^b	35	0,60
20 ^e	Escalante-Pérez M., Król E., Stange A., Geiger D., Al-Racheid K., Hause B., Neher E., Hedrich R. (2011) <i>A special pair of phytohormones controls excitability, slow closure, and external stomach formation in the Venus flytrap</i> PNAS 108: pp. 15492-15497	9,68	45	5,25
	Pawlikowska-Pawłęga B., Król E., Trębacz K., Gawron A. (2011) - <i>Quercetin and genistein hindering effects of</i>	1,64	25	0,25

21 ^e	<i>neomycin-action in the liverwort Conocephalum conicum</i> Acta Physiol Plant 33: p.1335			
22 ^p	Płachno B.J., Król E. , Koziaradzka-Kiszkurno M., Stolarczyk P. 2011: Rośliny mięsożerne - warte uwagi i ochrony [W:]Nakonieczny M., Migula P. (red.) Problemy środowiska i jego ochrony. Centrum Studiów nad Człowiekiem i Środowiskiem, Uniwersytet Śląski, Katowice 19: 131	0	2	0
23 ^e	Scherzer S., Król E. , Kreuzer I., Kruse J., Karl F., von Rüden M., Escalante-Perez M., Müller T., Rennenberg H., Al-Rascheid K., Neher E., Hedrich R. (2013) <i>The Dionaea muscipula ammonium channel DmAMT1 provides NH₄⁺ uptake associated with Venus flytrap's prey digestion</i> Curr Biol 23: pp. 1649-1657	9,92	45	1,50
24 ^e	Gao P., Löffler T.S., Honsel A., Król E. , Scherzer S., Kreuzer I., Bemm F., Buegger F., Burzlaff T., Hedrich R., Rennenberg H., Jörg Kruse J. (2014) <i>Integration of trap- and root-derived nitrogen nutrition of carnivorous Dionaea muscipula</i> New Phytol (DOI:10.1111/nph.13120)	6,37	45	brak danych
25 ^e	Pawlikowska-Pawłęga B., Dziubińska H., Król E. , Trębacz K., Gawron A. (2014) <i>Characteristics of quercetin interactions with liposomal and vacuolar membranes</i> Biochim Biophys Acta 1838: p.254	3,99	35	1
26 ^e	Stolarz M., Żuk M., Król E. , Dziubińska H. (2014) <i>Circumnutation tracker: Novel software for investigation of circumnutation</i> Plant Methods 10: 24	2,59	40	brak danych
SUMA		71,37	699	36.23
ŚREDNIA		2,75	26,88	1,39

* IF zgodnie z rokiem publikacji lub ^b za rok 2014

** Liczba punktów za publikację według wykazu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego

*** Liczba cytowań zgodnie z kalkulacją web of science (Thomson Reuters)

^p – praca przeglądowa

^e – praca eksperymentalna

C. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH NIEWCHODZĄCYCH W SKŁAD ROZPRAWY HABILITACYJNEJ

W publikacjach przed uzyskaniem stopnia doktora główny nacisk został położony na zdolność propagacji i analizę mechanizmu jonowego roślinnych potencjałów czynnościowych (Tabela 2, publ. nr 1, 2, 3, 5, 7, 11, 15). Wnioski wynikające z tych badań, że tylko prądy anionowo-potasowe przemieszczają się na znaczne odległości i stąd mogą pełnić funkcje systemiczne, podczas gdy przepływ jonów wapnia jest lokalny, więc pełni funkcję sygnałowe w „pobudzonej” komórce, przyczyniły się do skierowania mojej uwagi na poszukiwanie kanałów jonowych odpowiedzialnych za uwalnianie Ca^{2+} do cytoplazmy (Tabela 2, publ. nr 4, 10). Wpływ substancji regulujących płynność błon biologicznych na kanały jonowe uczestniczące w pobudzeniu był badany w pracach nr 3, 11, 15, 20, 24 (Tabela 2). Ponieważ wakuola stanowi znaczący rezerwuuar jonów wapniowych, a ich ewentualny wkład w pobudzenie (AP) jest obecnie sugerowany (van Bel et al., 2014; Xiong et al., 2014), próbę analizy kanałów SV (*slow vacuolar*) podjęto w pracach nr 12, 19 i 24 (Tabela 2).

Jednym z kandydatów odpowiedzialnych za dokomórkowy napływ jonów wapnia z apoplastu są białka GLR (*glutamate receptors*). Ich udział w generacji AP został opisany i pośrednio dowiedziony w publikacji nr 2 z Tabeli 1 (rozprawa habilitacyjna) oraz w niewchodzących w skład niniejszej rozprawy publikacjach nr 9, 17, 18 (Tabela 2). Związek pomiędzy APs a wzrostem wydłużeniowym łodygi oraz związanymi z nim ruchami cyrcumnutacyjnymi uwzględniają prace nr 13, 17, 18, 25 (Tabela 2). Funkcje AP u roślin zostały opisane w kilku pracach przeglądowych (Tabela 2, publ. nr 7, 8, 9 oraz Tabela 1, publ. nr 4).

U roślin niższych większość komórek (jeśli nie wszystkie) jest pobudliwa (Tabela 2, pub. nr 4, 14), podczas gdy zdolność do generacji i propagacji APs u roślin wyższych zachowały tylko żywe komórki tkanki przewodzącej (Tabela 2, pub. nr 8, 17, 18). W związku z tym zmiany potencjału transmembranowego rejestrowane w komórkach mezofilu mają charakter lokalny (Rys. 1A, B; Tabela 2 publ. nr 6, 7, 16). Wyjątkiem jest tu muchołówka (*Dionaea muscipula*), u której cały liść (pułapka) jest pobudliwy. Łatwość z jaką można rejestrować AP u muchołówki sprzyja wykorzystaniu jej jako rośliny modelowej w badaniach elektrofizjologicznych. Stąd moje zainteresowanie roślinami owadożernymi (Tabela 2, publ. nr 21, 22, 23 oraz rozprawa habilitacyjna). W dwóch kolejnych publikacjach udało się wykazać, że pobieranie dodatnio naładowanych nieorganicznych jonów zachodzi dzięki stale utrzymywanemu ujemnemu potencjałowi transmembranowemu (Tabela 2, publ. nr 22, 23). Co więcej, powinowactwo do transportowanego „substratu” wzrastało wraz z elektroujemnością błony. Zatem we wnioskach końcowych znalazło się stwierdzenie, że efektywność i szybkość transportu naładowanych substancji odżywczych jest kontrolowana przez utrzymywanie odpowiedniego potencjału transmembranowego (Scherzer et al., 2013) lub/i pobudliwości (praca w przygotowaniu). Serie potencjałów czynnościowych pojawiające się po omyciu pułapki 3%-wym roztworem soli alkalicznych mogą tu pełnić funkcje ochronne zapobiegając nadmiernej akumulacji toksycznych jonów w cytoplazmie, jak to

zostało przeze mnie zasugerowane na IX Konferencji „Techniki Elektrofizjologiczne w Badaniach Zjawisk Bioelektrycznych” (Lublin, Polska – referat; Acta Neurobiol Exp 2014, Vol. 74, A. 11).

D. DONIESIENIA ZJAZDOWE PRZED I PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

1. Janczarek M., Król E., Skorupska A. (1996) *Looking for the new DNA regions of Rhizobium leguminosarum bv. Trifolii 24,1 controlling exopolisaccharide synthesis* XXIII congress of Polish Microbiologist (Łódź, Poland), Sekcja III, Streszczenia: p. 85 (p-007)
2. Dziubińska H., Trębacz K., Zawadzki T., Stolarz M., Król E., Szarek I. (1997) *Pathways of electrical signal transmission in Helianthus annuus* XIII School on Biophysics of Membrane Transport (Łądek Zdrój, Poland), School Proceedings Part II: Cellular and Molecular Biology Letters 2: Suppl. 1
3. Król E., Trębacz K. (1998) *Indukowane światłem zmiany potencjału membranowego u Conocephalum conicum po zastosowaniu inhibitorów kanałów chlorowych* X Zjazd Polskiego Towarzystwa Biofizycznego (Lublin, Poland), Current Topics in Biophysics: A-72
4. Pawlikowska-Pawłęga B., Król E. (1998) *Wpływ kwercetyny na potencjał membranowy u wątrobowca Conocephalum conicum* X Zjazd Polskiego Towarzystwa Biofizycznego (Lublin, Poland), Current Topics in Biophysics: A-75
5. Trębacz K., Dziubińska H., Król E. (2001) *Kanały jonowe u wątrobowca Conocephalum conicum* XI Zjazd Polskiego Towarzystwa Biofizycznego (Cieszyn, Poland), Current Topics in Biophysics: Suppl. 1
6. Król E., Dziubińska H., Trębacz K., Zawadzki T., Krupa M., Buda A. (2001) *Low-temperature induced transmembrane changes occurring on the plasmalemma and the tonoplast of the liverwort Conocephalum conicum* Conference on Biophysics and Biology of Environmentally Important Membrane-Active Compounds (Wrocław, Poland), Cellular and Molecular Biology Letters 6: p.405
7. Buda A., Krupa M., Zawadzki T., Trębacz K., Dziubińska H., Król E. (2001) *Are lunar rhythms a „Zeitgeber” for circumnutations in sunflower (Helianthus annuus)?* Conference on Biophysics and Biology of Environmentally important Membrane-Active compounds (Wrocław, Poland), Cellular and Molecular Biology Letters vol.6 (2A), p.387
8. Dziubińska H., Hanaka A., Krol E., Trębacz K. 2002. *Anion channels in the tonoplast of Conocephalum conicum. A patch-clamp study.* 13th Congress of the Federation of European Societies of Plant Physiology, Hersonissos, Heraklion, Crete, Greece, 2-6 September 2002. Book of Abstracts (ed. Kalliopi A. Roubelakis-Angelakis): p. 373
9. Krol E., Dziubińska H., Trębacz K. *Cold induced transmembrane potential changes in higher plant mesophyll cells.* 13th Congress of the Federation of European Societies of Plant Physiology, Hersonissos, Heraklion, Crete, Greece, 2-6 September 2002. Book of Abstracts (ed. Kalliopi A. Roubelakis-Angelakis): p. 568
10. Dziubińska H., Hanaka A., Król E., Trębacz K. (2002) *The characteristics of anion channels in the tonoplast of the liverwort Conocephalum conicum. A patch-clamp study.* Cell. Mol. Biol. Lett. 7: p. 181
11. Król E., Dziubińska H., Trębacz K., Zawadzki T., Stolarz M., Buda A., Krupa M. (2002) *Light and low-temperature induced transmembrane potential changes in mesophyll cells.* Cell. Mol. Biol. Lett. 7: p. 201

12. Buda A., Krupa M., Zawadzki T., Dziubińska H., Król E., Stolarz M., Trębacz K. (2002) *The infradian rhythm of the motor cells of circumnutating Helianthus annuus shoots matches the long-period rhythm of the moon*. Cell. Mol. Biol. Lett.7: p. 260
13. Stolarz M., Zawadzki T., Król E., Dziubińska H., Krupa M., Buda A., Trębacz K. (2002) *Light-induced changes in stem circumnutations and electrical potential in Helianthus annuus L.* Cell. Mol. Biol. Lett.7: p. 331
14. Król E., Dziubińska H., Trębacz K., (2003) *Membrane responses of Dionaea muscipula flytraps to different abiotic stimuli* I Konferencja Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin (Olsztyn, Poland), Polish Journal of Natural Sciences (Supp. 1): p.126
15. Dziubińska H., Król E., Hanaka A., Trębacz K., (2003) *Characteristics of anion and SV channels in the vacuoles of the liverwort Conocephalum conicum L.* I Konferencja Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin (Olsztyn, Poland), Polish Journal of Natural Sciences (Supp. 1): p.109
16. Król E., Dziubińska H., Trębacz K., (2004) *Action potentials of Dionaea muscipula flytraps as a response to various stimuli* 13th International Workshop on Plant Membrane Biology (Montpellier, France), Abstracts: p. 211 (P11-10)
17. Trębacz K., Dziubińska H., Hanaka A., Król E. (2004) *Anion channel in the tonoplast of the liverwort Conocephalum conicum* 13th International Workshop on Plant Membrane Biology (Montpellier, France), Abstracts: p. 116 (P3-12)
18. Król E. Dziubińska H., Stolarz M., Trębacz K., Filek M. (2005) *Different responses to cold recorded in spring and winter varieties of rape (Brassica napus L var. oleifera)* The First Symposium on Plant Neuroscience (Florence, Italy) Book of Abstracts: p.74
19. Stolarz M., Dziubińska H., Król E., Krupa M., Charzewska A., Zawadzki T., Trębacz K. (2005) *Light-induced changes in stem growth and circumnutations in Helianthus annuus L.* The First Symposium on Plant Neuroscience (Florence, Italy) Book of Abstracts: p.79
20. Król E. Dziubińska H., Stolarz M., Trębacz K., Filek M. (2005) *Various responses to cold recorded in generative and vegetative leaves rape (Brassica napus L var. oleifera)* II Konferencja Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin (Poznań, Poland), Biological Lett 42: p.121
21. Pawlikowska-Pawłęga B., Król E. Trębacz K., Gawron A. (2005) *Effects of apigenin on membrane potential in the liverwort Conocephalum conicum.* II Konferencja Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin (Poznań, Poland), Biological Lett 42: 123-124
22. Stolarz M., Dziubińska H., Król E., Kurenda A., Krupa M., Zawadzki T., Trębacz K. (2007) *Glutamate-induced changes in electrical potential, circumnutations and stem growth in Helianthus annuus L.* 3rd International Symposium on Plant Neurobiology (Strbske Pleso, Slovakia) Book of Abstracts: p.100
23. Koselski M., Trębacz K., Dziubińska H., Król E. (2007) *Light- and dark-induced action potentials in gametophytes of the moss Physcomitrella patens.* XIV International Workshop Plant Membrane Biology (Valencia, Spain) Abstracts: p.226 (P10-33)
24. Koselski M., Trębacz K., Dziubińska H., Król E. (2007) *Differences between dark and light induced action potentials Physcomitrella patens.* 3rd Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology (Warsaw, Poland) Book of Abstracts: p.110
25. Stolarz M., Dziubińska H., Król E., Kurenda A., Krupa M., Zawadzki T., Trębacz K. (2007) *The relationship between circumnutations and elongation of green and etiolated hypocotyl of Helianthus annuus L.* 3rd Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology (Warsaw, Poland) Book of Abstracts: p.106


26. Pawlikowska-Pawłęga B., Król E., Trębacz K., Gawron A. (2007) *The influence of genistein on membrane potential in the liverwort Conocephalum conicum*. 3rd Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology (Warsaw, Poland) Book of Abstracts: p.21
27. Arents M., Nazeer A., Król E., Becker D. (2009) *Early steps in the interaction of bacteria with their host plant Arabidopsis thaliana*. Botanikertagung, Universität Leipzig (Leipzig, Germany) Book of Abstracts: p. 7 (S25-14)
28. Król E., Arents M., Becker D., Dziubińska H., Trębacz K., Hedrich R. (2009) *Endogenous defence receptors coincide with PAMP-perception systems*. 4th Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology (Krakow, Poland) Acta Biologica Cracoviensia 51 (Suppl. 2): p.32 (2.13)
29. Kupisz K., Trębacz K., Dziubinska H., Król E. (2009) *Low-temperature and (+/-)menthol induced transmembrane potential changes in the liverwort Conocephalum conicum L.* 4th Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology (Krakow, Poland) Acta Biologica Cracoviensia 51 (Suppl. 2): p.59 (4.40)
30. Koselski M., Trębacz K., Dziubinska H., Król E., (2009) *Ion channels in the tonoplast of the moss Phacomitrella patens*. 4th Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology (Krakow, Poland) Acta Biologica Cracoviensia 51 (Suppl. 2): p.106 (8.12)
31. Pawlikowska-Pawłęga B., Król E., Trębacz K., Gawron A. (2009) *Effects of apigenin, genistein and quercetin on membrane potential in the liverwort Conocephalum conicum*. 4th Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology (Krakow, Poland) Acta Biologica Cracoviensia 51 (Suppl. 2): p.109 (8.20)
32. Pawlikowska-Pawłęga B., Gawron A., Krol E., Trebacz K, Kupisz K., Dziubinska H. (2010) *Effects of quercetin on vacuolar membranes in the liverwort Conocephalum conicum* Annual Meeting of the Society for Experimental Biology (Prague, Czech Republik) Abstract Book: p. 251 (C5.28)
33. Trebacz K., Filek M., Dziubinska H., Kupisz K., Krol E. (2010) *Slow Vacuolar (SV) channels in Cd and Se treated rape (Brassica napus)* Annual Meeting of the Society for Experimental Biology (Prague, Czech Republik) Abstract Book: p. 251 (C5.29)
34. Hamacher M., Vijayakumar V., Krol E., Brodesser S., Ranf S., Junkermann S., Scheel D., Hedrich R., Bucher M. (2011) *Sphingosylphosphorylcholine: a new Arabidopsis lysophospholipid involved in calcium signaling, root growth and cell division* Botanikertagung, Humboldt-Universität Berlin (Berlin, Germany) Conference Book: S26 (P7)
35. Krol E., Scherzer S., Kreuzer I., Hedrich R. (2012) *Excitable Venus flytrap Dionaea muscipula operates DmAMT1 an ammonium transporter providing for NH₄⁺ uptake associated with animal prey capture and digestion* Annual Meeting of the German Biophysical Society (DGfB, Göttingen, Germany) Book of Abstracts: p.273 (P156)
36. Krol E., Scherzer S., Kreuzer I., Kruse J., Escalante-Perez M., Karl F., Müller T., Rennenberg H., Al-Rasheid K.A.S., Neher E., Hedrich R. (2013) *Dioaea muscipula ammonium transporter DmAMT1 provides for NH₄⁺ uptake in a channel-like fashion* Annual Meeting of the Society for Experimental Biology (Valencia, Spain) Abstract Book: P4.8
37. Krol E., Böhm J., Scherzer S., Kreuzer I., Kruse J., Müller T., Hedrich R. (2014) *Dioaea muscipula nutrient transporters employ channel-like properties*; IX Konferencja Techniki Elektrofizjologiczne w Badaniach Zjawisk Bioelektrycznych (Lublin, Polska) Acta Neurobiol Exp 74, A. 11

38. Krol E., Paponov I. A., Hedrich R., Palme K. (2014) *AUX1-dependent depolarization of membrane potential is endocytosis independent* Plant Transport Group (Glasgow, United Kingdom) Plant Transport: p.41

E. PODRECZNIKI I SKRYPTY

1. Zawadzki T., Dziubińska H., Stolarz M., **Król E.**, Krupa M., Buda A. (2002) *Ćwiczenia z biofizyki dla studentów biologii i biotechnologii UMCS w Lublinie* (p. red. prof. dr hab. K. Trębacz); UMCS, Lublin 2002
2. Dziubińska H., Zawadzki T., Charzewska A., **Król E.**, Stolarz M., Koperwas E., Krupa M., Kupisz K. (2010) *Skrypt do ćwiczeń z biofizyki dla studentów biologii i biotechnologii UMCS w Lublinie* (p. red. prof. dr hab. K. Trębacz); UMCS, Lublin 2010

Lublin, 13.01.2015
(Place, date)




(Applicant's signature)

PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO

	Liczba Publikacji	Punkty MNiSW (łącznie)	IF (łącznie) zgodnie z rokiem publikacji
Prace oryginalne wchodzące w skład <u>rozprawy habilitacyjnej</u>	<u>3</u>	<u>95</u>	<u>8,76</u>
Prace oryginalne z wyłączeniem rozprawy habilitacyjnej	21	646	67,37
Prace przeglądowe wchodzące w skład <u>rozprawy habilitacyjnej</u>	<u>2</u>	<u>47</u>	<u>4,03</u>
Prace przeglądowe z wyłączeniem rozprawy habilitacyjnej	5	53	4
SUMA	31	841	84,13

Lublin, 13.01.2015
(Place, date)



 (Applicant's signature)