

Załącznik nr 2

AUTOREFERAT

**przedstawiający życiorys naukowy wnioskodawcy, osiągnięcie naukowe
zgłaszane jako przedmiot postępowania habilitacyjnego
oraz pozostałe osiągnięcia naukowe**

Dr Dorota Tchórzewska

Zakład Anatomii i Cytologii Roślin
Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

Lublin 2018

1. Imię i nazwisko: Dorota Sabina Tchórzewska

2. Wykształcenie, posiadane dyplomy, stopnie naukowe

1990: Magister biologii, Zakład Botaniki Ogólnej, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, Lublin. Tytuł pracy magisterskiej: „Mikroskopowe grzyby fitopatogeniczne okolic Nowego Sącza”, promotor: Prof. dr hab. Bogusław Sałata.

2004: Doktor nauk biologicznych, Instytut Biologii (obecnie Instytut Biologii i Biochemii), Wydział Biologii i Nauk o Ziemi (obecnie Wydział Biologii i Biotechnologii), Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, Lublin. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Wpływ szkieletu cytoplazmatycznego na przemieszczenia organelli komórkowych w mejozie u kilku gatunków roślin”. Praca wykonana w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin, promotor: Prof. dr hab. Józef Bednara.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

1990 – 1997 Pracownik inżynierjno-techniczny, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, Lublin

1997 – 2004 Asystent Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, Lublin

2004 – 2017 Adiunkt, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, Lublin

2017 – obecnie Asystent, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, Lublin

W latach 1996-1997 i 2004-2005 przebywałam na urloпах macierzyńskich

4. Opis osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.)

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego:

„Wybrane aspekty rozwoju męskiego gametofitu roślin oraz badania porównawcze *Allium sativum*, *A. ampeloprasum* i *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum*”

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

(Wartości IF wg JCR, podano IF 5 letni. Punktację MNiSW podano zgodnie z ujednoliconym wykazem czasopism naukowych w latach 2013-2016; *autor korespondencyjny)

1. ***Tchórzewska D.**, Deryło K., Błaszczuk L., *Winiarczyk K. (2015) Tubulin cytoskeleton during microsporogenesis in the male-sterile genotype of *Allium sativum* and fertile *Allium ampeloprasum* L. **Plant Reproduction**, 28(3):171–182. DOI 10.1007/s00497-015-0268-0

IF_{5lat}: 2,937; MNiSW: 30 pkt.

Mój udział szacuję na 75%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań, przygotowaniu materiału badawczego do analiz immunocytochemicznych, przeprowadzeniu analiz żywotności i zdolności do kiełkowania pyłku materiału badawczego, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, redakcji manuskryptu po recenzjach, jestem autorem korespondencyjnym tej publikacji.

2. ***Tchórzewska D.**, Deryło K., Winiarczyk K. (2017) Cytological and biophysical comparative analysis of cell structures at the microsporogenesis stage in sterile and fertile *Allium* species. **Planta**, 245:137–150. DOI 10.1007/s00425-016-2597-0

IF_{5lat}: 3,696; MNiSW: 40 pkt.

Mój udział szacuję na 85%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań, przygotowaniu materiału badawczego do analiz spektralnych w mikroskopie konfokalnym, przeprowadzeniu analiz cytochemicznych, opracowaniu i integracji danych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, redakcji manuskryptu po recenzjach, jestem autorem korespondencyjnym tej publikacji.

3. ***Tchórzewska D.**, Luchowski R., Gruszecki W.I., Winiarczyk K. (2018) Comparative studies of live tapetum cells in sterile garlic (*Allium sativum*) and fertile leek (*Allium ampeloprasum*) using the Fluorescence Lifetime Imaging analytical method. **South African Journal of Botany**, DOI 10.1016/j.sajb.2018.05.021.

IF_{5lat}: 1,491; MNiSW: 25 pkt

Mój udział szacuję na 75%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, przygotowaniu materiału badawczego do analiz Fluorescence Lifetime Imaging, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, redakcji manuskryptu po recenzjach, jestem także autorem korespondencyjnym tej publikacji.

4. ***Tchórzewska D.** (2017) Chondriokinesis during microsporogenesis in plants. **Planta**, 246:1–18. DOI 10.1007/s00425-017-2706-8

IF_{5lat}: 3,696; MNiSW: 40 pkt.

Mój udział wynosi 100%.

5. Najda A., Błaszczuk L., Winiarczyk K., Dyduch J. and ***Tchórzewska D.** (2016) Comparative studies of nutritional and health-enhancing properties in the “garlic-like” plant *Allium ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) and *A. sativum*. **Scientia Horticulturae**, 201: 247–255. DOI 10.1016/j.scienta.2016.01.044

IF_{5lat}: 1,883; MNiSW: 35 pkt.

Mój udział szacuję na 65%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań, przeprowadzeniu analizy morfologii materiału badawczego, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, redakcji manuskryptu po recenzjach, jestem autorem korespondencyjnym tej publikacji.

6. *Tchórzewska D., Bocianowski J., Najda A., Dąbrowska A., Winiarczyk K. (2017) Effect of environment fluctuations on biomass and allicin level in *Allium sativum* (cv. Harnas, Arkus) and *Allium ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L). **Journal of Applied Botany and Food Quality**, 90:106–116. DOI 10.5073/JABFQ.2017.090.013

IF_{5lat}: 1,064; MNiSW: 20 pkt.

Mój udział szacuję na 70%. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań, fenologicznych i morfologicznych analizach materiału badawczego, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, redakcji manuskryptu po recenzjach, jestem autorem korespondencyjnym tej publikacji.

4.3. Bibliometryczne podsumowanie osiągnięcia naukowego

Publikacje	Liczba	Wskaźnik IF 5 lat	Punkty MNiSW
Eksperymentalne	5	11,071	150
Przeglądowe	1	3,696	40
Razem	6	14,767	190

4.4. Omówienie celu naukowego prac składających się na osiągnięcie naukowe i uzyskanych rezultatów wraz z omówieniem ich potencjalnego wykorzystania

4.4.1. Wprowadzenie

Prace badawcze realizowane w ramach osiągnięcia habilitacyjnego dotyczyły dwóch komplementarnych nurtów badawczych: pierwszy aspekt to analiza rozwoju męskiego gametofitu roślin w kontekście określenia mechanizmów leżących u podstaw męskiej sterylności u *Allium sativum* (czosnek). W badaniach zwróciłam uwagę na zmiany strukturalne w komórkach dzielących się mejotycznie, jak cytoszkielet czy kalozowa ściana mejocytów oraz tapetum u wybranych gatunków z rodzaju *Allium*. Zebrałam także informacje na temat kluczowego procesu w rozwoju męskiego gametofitu jakim jest chondriokineza w mikrosporogenezie. Drugi nurt badawczy to analizy porównawcze własności prozdrowotnych *A. sativum* oraz *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum*, który w różnych regionach świata używany jest zamiennie z czosnkiem i jest nazywany popularnie "Great-Headed-Garlic (GHG)".

A. sativum jest uprawiany na masową skalę na wszystkich kontynentach od tysięcy lat. Obecnie hodowany komercyjnie czosnek jest sterylny i rozmnażany wyłącznie na drodze wegetatywnej. Z jednej strony propagacja wegetatywna jest pożądaną cechą dla produkcji roślinnej na skalę przemysłową, jednak z drugiej strony jest niekorzystnym zjawiskiem, gdyż

rozmnażanie płciowe zapewnia zmienność genetyczną, co jest naturalnym mechanizmem adaptacji gatunku do zmieniającego się środowiska, ale co najważniejsze z punktu widzenia hodowli przemysłowej, jest najprostszym sposobem otrzymania nowych odmian o pożądanych cechach spełniających oczekiwania obecnego konsumenta.

Na wstępie należy podkreślić, że płodne ekotypy *A. sativum* występują tylko w naturalnych siedliskach i rosną w specyficznych warunkach środowiskowych w górach Tienszan (na granicy między Kazachstanem a Chinami). Generatywne rozmnażanie tych roślin w odmiennych niż naturalne warunkach klimatycznych nie powiodło się, tj. po introdukcji do warunków klimatu umiarkowanego zdolność płciowego rozmnażania stopniowo zanikała i ostatecznie następowała całkowita jej utrata (Etoh i wsp. 1988). W ramach wielu prac badawczych podjęto próby mające na celu przywrócenie płodności u czosnku, np. poprzez hodowle tkankowe i selekcję płodnych ekotypów. Jednakże wysiłki te nie dały pożądanych rezultatów, wprawdzie w niektórych próbach uzyskiwano osobniki wytwarzające nasiona, ale kiełkowanie tych nasion trwało bardzo długo (nawet 12 miesięcy), a otrzymane sadzonki wykazywały deformacje morfologiczne i w końcowym rezultacie traciły płodność (Jenderek 1998). Prowadzone były również badania mające na celu przełamanie męskiej sterylności u czosnku, ale także bez spodziewanych rezultatów (Kamenetsky i Rabinovitch 2001, 2002; Bhagyalakshmi i wsp. 2005). Obecnie opisano szereg nieprawidłowości rozwojowych występujących u czosnku, które mogą leżeć u podstaw sterylności tej tak ważnej rośliny użytkowej. Wskazano na zaburzenia w przebiegu mikrosporogenezy, megasporogenezy i gametogenezy (Kononkov 1953; Shemesh Mayer i wsp. 2013), zwrócono także uwagę na nieprawidłowości w rozwoju tkanki odżywczej tapetum (Novak 1972). Ponadto, sugerowano, że może pojawiać się zjawisko niedożywienia kwiatów, w wyniku konkurencji pomiędzy generatywnymi a wegetatywnymi elementami kwiatostanu (Koul i Gohil 1970). Natomiast analizy genetyczne wskazały na zaburzenia w materiale genetycznym, objawiające się delecjami chromosomów (Etoh 1986). Uważa się, że u obecnie uprawianych komercyjnie ekotypów czosnku sterylność została utrwalona na poziomie genetycznym i powrót do formy płodnej jest niemożliwy. Występujące obecnie w różnych regionach świata formy w obrębie gatunku *A. sativum*, które tworzą populacje (ekotypy) czosnku, powstały prawdopodobnie w wyniku spontanicznych mutacji a następnie selekcji i w mniejszym lub większym stopniu, różnią się między sobą nie tylko morfologicznie, ale także zaburzeniami w rozwoju gametofitu męskiego i żeńskiego. Dlatego na bazie obserwacji anatomiczno-cytologicznych, wyróżniono kilka typów sterylności u czosnku. Typ 1 jest całkowicie sterylny (zaburzenia w linii żeńskiej i męskiej); typ 2 jest męsko-sterylny a zaburzenia występują tylko w linii męskiej podczas mikrosporogenezy; typ 3 jest również męsko-sterylny, formowane są ziarna pyłku, które jednak nie są płodne; typ 4 to żeńska sterylność (Shemesh Mayer i wsp. 2013). Należy podkreślić, że chociaż opisano wiele przejawów sterylności u czosnku, jak dotąd brak jest jednoznacznych doniesień na temat molekularnych mechanizmów leżących u podstaw tego zjawiska.

Czosnek jest najważniejszym ekonomicznie gatunkiem zaliczanym do rodzaju *Allium* i uprawiany jest na całym świecie ze względu na wysoką zawartość wielu bioaktywnych komponentów, które występują w podziemnej cebuli oraz młodych liściach i wykazują wielokierunkowe działanie farmakologiczne. Biologicznie aktywne substancje zawarte w czosnku, które posiadają właściwości prozdrowotne, można podzielić na dwie główne grupy.

Pierwsza, i najbardziej znana, to związki zawierające siarkę, np. allina i jej pochodna allicyna, wykazująca działanie przeciwbakteryjne. Druga grupa to bardzo liczne związki organiczne pozbawione siarki, zaliczane do polifenoli, jak: antocyjany, flawonole, garbniki, flawonoidy, kwasy fenolowe, fitosterole, glikozydy, karotenoidy, saponiny, które wpływają pozytywnie na metabolizm człowieka. Ponadto, czosnek jest nie tylko źródłem złożonych bioaktywnych substancji o charakterze wtórnych metabolitów, ale także, jest bogatym źródłem egzogennych aminokwasów, które są niezbędne dla organizmu człowieka i muszą być dostarczone wraz z pożywieniem. Zatem, dzięki wysokiej zawartości licznych biokomponentów czosnek posiada cenne walory odżywcze i prozdrowotne. Roślina ta ma charakterystyczny zapach związany z zawartością dużej ilości lotnych olejków. Natomiast smak czosnek zawdzięcza głównie allicynie, która jest pochodną alliny. Allina w podstawowej formie jest substancją bezwonną i bez smaku. Jednakże jest ona niestabilna chemicznie i w podwyższonej temperaturze lub poddana działaniu tlenu dość łatwo ulega spontanicznemu rozpadowi do licznych pochodnych z grupy monosiarczków, disiarczków i trisiarczków, które nadają czosnkowi charakterystyczny zapach. Najważniejsze jednak, z punktu widzenia właściwości prozdrowotnych, jest przekształcenie alliny w allicynę na drodze biokonwersji. Proces ten zachodzi na skutek uszkodzenia mechanicznego tkanki roślinnej, co prowadzi do uwolnienia enzymu allinazy, która katalizuje przemianę nieaktywnej biologicznie alliny do allicyny. Allicyna jest jednym z najważniejszych i najlepiej poznanych związków siarkowych u czosnku, a jej poziom może sięgać nawet do 70% wszystkich związków zawierających siarkę występujących u tego gatunku (Lawson 1998). Allicyna posiada ogromne znaczenie farmakologiczne, głównie jako antybiotyk o działaniu antybakteryjnym (Fozieh i wsp. 2014), ale czosnek w medycynie tradycyjnej używany jest także jako środek przeciwzapalny (Singh i Singh 2008), przeciwgrzybiczy (Akinmusire i wsp. 2014) i przeciwwirusowy (Gebreselema i Mebrahtu 2013). Zanotowano także przeciw-proliferacyjne działania wyciągu z czosnku na komórki nowotworowe, co otwiera nowe, mało poznane dotychczas możliwości zastosowania tej rośliny (Fleischauer i wsp. 2000). Ponadto zaobserwowano, że związki czynne zawarte w czosnku wpływają aktywnie na metabolizm człowieka, np.: rozrzedzają wydzielinę z oskrzeli, obniżają ciśnienie tętnicze, zmniejszają stężenie cholesterolu LDL, działają przeciwzakrzepowo i fibrynolitycznie we krwi, oraz pobudzają wydzielanie żółci i soku żołądkowego w układzie pokarmowym (Buddoff i wsp. 2004). W związku z powyższym można powiedzieć, że czosnek jest jedną z najbardziej interesujących roślin o niezwykłych właściwościach prozdrowotnych.

Podsumowując, można zatem stwierdzić, że tak niezwykle ważna dla zdrowia człowieka roślina wymaga z jednej strony badań podstawowych, ukierunkowanych na lepsze poznanie biologii gatunków z rodzaju *Allium*, jak na przykład kwestię genetyki sterility czosnku. Z drugiej strony wymaga także badań w aspekcie aplikacyjnym, mających na celu poznanie parametrów biochemicznych czosnku związanych z jego działaniem prozdrowotnym oraz zidentyfikowanie nowych ekotypów i gatunków o podwyższonych właściwościach prozdrowotnych.

4.4.2. Cel badań

Celem moich badań, których wyniki przedstawiono w formie osiągnięcia naukowego, było rozszerzenie wiedzy na temat rozwoju męskiego gametofitu roślin ze szczególnym

uwzględnieniem problemu badawczego jakim jest męska sterylność u *Allium sativum*. W ramach tematu sklasyfikowałam także chondriokinezę w mikrosporogenezie, która jest kluczowym procesem w formowaniu zdolnych do zapłodnienia męskich gametofitów. Do badań wykorzystywałam gatunki należące do rodzaju *Allium*, które charakteryzują się różnym stopniem zaawansowania rozwoju męskiego gametofitu. Realizowane zadania badawcze były prowadzone na poziomie organów i tkanek roślinnych oraz poszczególnych struktur komórkowych z wykorzystaniem tradycyjnych technik (mikroskopii świetlnej, fluorescencyjnej, elektronowej transmisyjnej i elektronowej skaningowej). Zostały także zaimplementowane innowacyjne technologie z zakresu analiz biofizycznych, jak Autofluorescence Spectral Imaging – ASI oraz Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy – FLIM, rzadko stosowane w badaniach embriologiczno-cytologicznych komórek roślinnych. Jako punkt odniesienia w realizowanych badaniach został wykorzystany *A. ampeloprasum* (por), który jest gatunkiem płodnym i blisko spokrewnionym filogenetycznie z czosnkiem. W trakcie realizacji prac badawczych opisano *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L), który pochodził z uprawy niekomercyjnej. Ze względu na nieznaną źródło pochodzenia określono jego pozycję filogenetyczną i nazwano GHG-L, z dopiskiem "L" (Lublin). W wielu krajach GHG używany jest zamiennie, a nawet jest mylony, z czosnkiem, a w literaturze jest opisywany często jako „garlic-like plant”. Stwierdziłam, że jest to gatunek filogenetycznie blisko spokrewniony zarówno z czosnkiem, jak i porem. Co ciekawe, przeprowadzone przeze mnie analizy anatomiczno-cytologiczne GHG-L wykazały, że odznacza się on głęboką męską sterylnością, przez co stanowił doskonały materiał badawczy, nigdy dotąd nieanalizowany pod kątem anatomiczno-cytologicznym i biofizycznym. Należy podkreślić, że w ramach prac stanowiących osiągnięcie naukowe, nie tylko skoncentrowałam się na tematach z zakresu badań podstawowych, ale swoją uwagę skupiłam także na aspekcie aplikacyjnym analizując własności prozdrowotne *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) i czosnku.

4.4.3. Cele szczegółowe badań

Do zakresu poszczególnych zadań badawczych wchodzących bezpośrednio w skład osiągnięcia naukowego zaliczam:

1. Badania rozwoju męskiego gametofitu u sterylnych gatunków z rodzaju *Allium* (*Allium sativum* L13, *A. sativum* cv. Harnaś, *A. sativum* cv. Arkus, *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* GHG-L) oraz gatunku płodnego (*A. ampeloprasum*), w tym przeprowadzenie:

- morfologicznej, anatomicznej i cytochemicznej charakterystyki *Allium sativum* L13, *A. sativum* cv. Harnaś, *A. sativum* cv. Arkus, *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* oraz *A. ampeloprasum*,
- analizy konfiguracji tubulinowego cytoszkieletu w komórkach mejotycznych podczas mikrosporogenezy z wykorzystaniem techniki immunocytochemicznej oraz mikroskopii fluorescencyjnej,
- analizy strukturalnej ściany kalozowej komórek dzielących się mejotycznie oraz tkanki odżywczej (tapetum) podczas mikrosporogenezy z wykorzystaniem metody biofizycznej, takiej jak spektralna analiza autofluorescencji z użyciem mikroskopu konfokalnego firmy Zeiss LSM780 (Autofluorescence Spectral Imaging – ASI).

- analizy stanu metabolicznego tkanki odżywczej – tapetum z wykorzystaniem czasów życia fluorescencji (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy – FLIM) jako metody analitycznej.

2. Opracowanie aktualnej klasyfikacji chondriokinezy u roślin oraz opisanie jej roli w procesie formowania męskiego gametofitu u roślin.

3. Badania właściwości prozdrowotnych i odżywczych *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) w porównaniu z powszechnie uprawianym *A. sativum*:

- określenie pozycji filogenetycznej GHG-L wśród innych gatunków należących do rodzaju *Allium*,
- analiza porównawcza cech fenologicznych i morfologicznych *A. sativum* i GHG-L,
- jakościowe i ilościowe badania biochemiczne aminokwasów endogennych, aminokwasów egzogennych, polifenoli, kwasów fenolowych w liściach i cebuli oraz poziomu allicyny w cebuli *A. sativum* i GHG-L,
- analizy porównawcze plonowania i poziomu allicyny u *A. sativum* i GHG-L z uwzględnieniem wpływu średnich temperatur oraz sumy opadów w kolejnych sezonach wegetacyjnych.

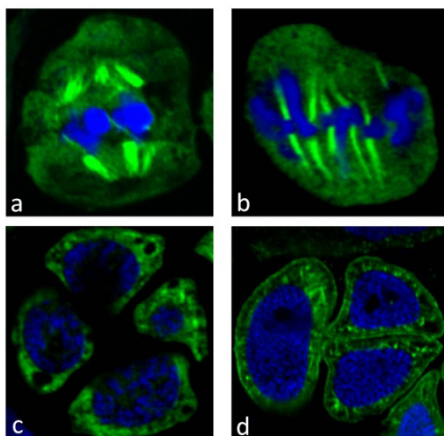
4.4.4. Wyniki

Analiza tubulinowego cytoszkieletu w mikrosporogenezie u sterylnego czosnku (*Allium sativum*) i płodnego pora (*A. ampeloprasum*)

Wyniki te przedstawiono w publikacji: *Tchórzewska D., Deryło K., Błaszczuk L., *Winiarczyk K. (2015) *Tubulin cytoskeleton during microsporogenesis in the male-sterile genotype of Allium sativum and fertile Allium ampeloprasum L. Plant Reproduction*, 28(3):171–182. DOI 10.1007/s00497-015-0268-0. *autorzy korespondencyjni

Najczęściej opisywanym typem sterylności u różnych ekotypów czosnku jest męska sterylność polegająca na zaburzeniach w procesie mikrosporogenezy (typ 2) lub gametogenezy (typ 3). Zaburzenia w obrębie tych procesów u licznych ekotypów występują na różnych etapach rozwoju męskiego gametofitu, dlatego bardzo trudno jest określić zależności przyczynowo skutkowe w sterylności u czosnku. Wyjaśnienie mechanizmu tego zjawiska to zadanie, które podejmowane było od lat przez wiele grup badawczych, a sukces w tym zakresie w znacznym stopniu zbliżyłby nas do przełamania męskiej sterylności u tego gatunku. Jak dotąd, w badaniach zaburzeń rozwoju męskiego gametofitu u czosnku nigdy nie zwrócono uwagi na tubulinowy szkielet cytoplazmatyczny w komórkach dzielących się mejotycznie podczas mikrosporogenezy. Tubulinowy cytoszkielet w procesie mejozy jest niezwykle labilną strukturą i wszelkie zaburzenia w dynamicznie zmieniających się konfiguracjach mikrotubul (MTs) skutkują zaburzeniami całego procesu mikrosporogenezy, a co za tym idzie brakiem możliwości utworzenia funkcjonalnego męskiego gametofitu (Brown i Lemmon 2001).

Celem moich badań była analiza tubulinowego cytoszkieletu na poszczególnych etapach mikrosporogenezy u męsko-sterylnego *A. sativum*, co stanowi próbę wglądu w przyczyny męskiej sterylności u tego gatunku. Materiałem kontrolnym był płodny *A. ampeloprasum* (pora), który produkuje liczne nasiona. W celu precyzyjnej charakterystyki materiału badawczego podjęłam współpracę z panią dr Lidią Błaszczak z Zakładu Genetyki Patogenów i Odporności Roślin PAN w Poznaniu, aby wykonać analizy genetyczne badanych gatunków. W toku tych analiz z liści *A. sativum* oraz *A. ampeloprasum*, wyizolowano DNA i wykonano badania genetyczne w celu identyfikacji roślin na bazie charakterystycznych sekwencji kodujących rybosomalny RNA. Uzyskane sekwencje porównano z dostępnymi sekwencjami, zdeponowanymi w bazie danych GenBank, co pozwoliło na jednoznaczne określenie bliskiego filogenetycznego pokrewieństwa między czosnkiem i porem. W celu przeanalizowania tubulinowego cytoszkieletu na pierwszym etapie badań opracowałam parametry techniczne metody immunocytochemicznego barwienia tubuliny, wykorzystując do tego celu tkankę somatyczną pochodzącą z merystemu wierzchołkowego korzenia badanego czosnku. Po opracowaniu metody analitycznej i uzyskaniu pozytywnego wyniku (czyli prawidłowego i pełnego obrazu wrzeciona kariokinetycznego w dzielącej się mitotycznie komórce), przystąpiłam do immunocytochemicznego barwienia mikrotubul w dzielących się mejotycznie komórkach macierzystych pyłku (PMC) w kolejnych etapach mikrosporogenezy: od profazy I do tetrady mikrospor u *A. sativum* L13 i od profazy I do etapu wolnych mikrospor u *A. ampeloprasum*. Badania immunocytochemiczne mejocytów w telofazie II rozszerzyłam o analizy z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM), w celu porównania cytologicznego obrazu zamierających tetrad czosnku z prawidłowo rozwijającymi się tetradami pora. Analiza ta pozwoliła jednoznacznie określić, że na etapie tetrady mikrospor u czosnku wszystkie struktury komórkowe ulegają stopniowej degeneracji w przeciwieństwie do prawidłowo wykształconych elementów komórkowych obserwowanych w tetradach pora. Ponadto, swoje badania rozszerzyłam o analizę żywotności powstałych ziaren pyłku pora, przeprowadzając test Alexandra, który wykazał, że u tego gatunku występuje duży procent żywotnego pyłku, a tym samym potwierdził wysoką wydajność procesu mikrosporogenezy. W celu dalszej weryfikacji zdolności do kiełkowania pyłku pora, przeprowadziłam kiełkowanie *in planta*, a następnie wykonałam barwienie cytochemiczne słupka badanego gatunku, w celu obrazowania pyłku kiełkującego w łagiewki na znamieniu słupka. Analiza ta pokazała jednoznacznie, że u pora znaczny procent pyłku wytwarza łagiewki pyłkowe wrastające w szyjkę słupka, a tym samym potwierdziłam wysoki potencjał tego gatunku do zapłodnienia żeńskiego gametofitu.



Ryc. 1 a-b Mejocyty w stadium metafazy I, widoczne wrzeciono kariokinetyczne i metafazowe chromosomy u *Allium sativum* L13 (a) i *A. ampeloprasum* (b). **c-d** Tetrady mikrospor z widocznym cytoszkieletem korykalnym u *Allium sativum* L13 (c) i *A. ampeloprasum* (d). Mikrotubule barwione immunocytochemicznie, DNA barwione DAPI.

Podsumowując, można stwierdzić, że analizy filogenetyczne, oraz cytochemiczne (TEM i LM jasnego pola i analiza z wykorzystaniem mikroskopii fluorescencyjnej) wykonane u pora wykazały, że jest on prawidłowo dobranym materiałem badawczym, będącym płodną kontrolą dla sterylnego czosnku. Natomiast przeprowadzone analizy immunocytochemiczne pozwoliły stwierdzić, że podczas mikrosporogenezy u męsko-sterylnego *A. sativum* L13 tubulinowy cytoszkielet w mejocytach formuje typowe dla kolejnych stadiów mejozy konfiguracje, które także obserwowałam u płodnej kontroli. Jednakże, należy podkreślić, że pomimo prawidłowego układu MTs u czosnku, kolejne konfiguracje charakteryzowały się uboższym cytoszkieletem, w stosunku do konfiguracji u pora (np. podczas metafazy I i II u czosnku wrzeczono kariokinetyczne zbudowane było z nielicznych za to szerokich pasm MTs, oraz brak było prawidłowego cytoszkieletu korytkalnego na etapie tetrady mikrospor, Ryc. 1). Różnice te nie wpływały na przebieg kariokinezy, chondriokinezy oraz cytokinezy i w konsekwencji następowało zakończenie mikrosporogenezy. Jednakże należy podkreślić, że tubulinowy cytoszkielet odpowiedzialny jest nie tylko za prawidłowy przebieg podziału komórki, ale także odgrywa kluczową rolę w transporcie wewnątrzkomórkowym. Na przykład korytkalne MTs kontrolują kierunek wydłużania się komórki poprzez orientację odkładania substancji formujących mikrofibryle w ścianie komórkowej. Zatem zaburzenia w formowaniu cytoszkieletu korytkalnego na etapie tetrady mikrospor, wpływając na upośledzenie transportu wewnątrzkomórkowego, mogą być przyczyną procesu degeneracji mikrospor na samym początku gametogenezy u *A. sativum* L13.

Analizy spektralne autofluorescencji struktur komórkowych mejocytów oraz komórek tapetum podczas mikrosporogenezy sterylnych gatunków z rodzaju *Allium* (*Allium sativum* cv. Harnaś, *A. sativum* cv. Arkus, *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum*) oraz płodnej kontroli (*A. ampeloprasum*)

Wyniki te przedstawiono w publikacji: *Tchórzewska D., Deryło K., Winiarczyk K. (2017) Cytological and biophysical comparative analysis of cell structures at the microsporogenesis stage in sterile and fertile *Allium* species. *Planta*, 245:137–150. DOI 10.1007/s00425-016-2597-0. *autor korespondencyjny

W celu zrozumienia mechanizmów związanych z obserwowanymi u czosnku zaburzeniami w rozwoju męskiego gametofitu, zwróciłam swoją uwagę na proces mikrosporogenezy i gametogenezy u męsko-sterylnego *A. sativum* kultywar Harnaś i kultywar Arkus. Dodatkowo do badań wykorzystalam *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L), który jest rośliną filogenetycznie blisko spokrewnioną z czosnkiem. W zainicjowanych badaniach punkt odniesienia, tj. płodną kontrolę stanowił *A. ampeloprasum* (por), który jest filogenetycznie spokrewniony zarówno z czosnkiem, jak i GHG-L.

Na pierwszym etapie badań przeanalizowałam przebieg mikrosporogenezy u wszystkich badanych gatunków, wykorzystując do tego celu mikroskop świetlny (LM) z kontrastem Nomarskiego. Analizy te wykazały, że u GHG-L komórki macierzyste pyłku (PMC) rozpoczynały wprawdzie mejozę, ale już na początku profazy I następowały degeneracyjne zmiany elementów komórkowych i mejocyty zamierały. U *A. sativum* kultywar Harnaś powstawały tetrady mikrospor z obrazem cytologicznym nieodbiegającym od płodnej kontroli. Jednakże nie następował rozpad tetrady na wolne mikrospory, natomiast miała

miejsce degeneracja komórek w obrębie kalozowej ściany tetrazy. Natomiast u czosnku cv. Arkus, stwierdziłam, że zarówno mikrosporogeneza jak i gametogeneza przebiegają prawidłowo, formowane są dwujądrowe oraz dwukomórkowe ziarna pyłku, jednakże obraz cytologiczny takich ziaren pyłku znacząco odbiegał od płodnej kontroli i na tym etapie ziarna pyłku cv. Arkus zamierały. W celu wykazania wydajności procesu gametogenezy swoje badania rozszerzyłam o analizę żywotności powstałych ziaren pyłku u *A. sativum* cv. Arkus oraz u *A. ampeloprasum*, przeprowadzając test Alexandra. Test ten wykazał, że u czosnku wszystkie powstałe ziarna pyłku są nieżywotne, natomiast u pora występuje 85-90% żywotnego pyłku, co jest potwierdzeniem obserwacji cytologicznych, które przeprowadziłam w mikroskopie świetlnym. Zatem na bazie przeprowadzonych obserwacji, można stwierdzić, że zgodnie z klasyfikacją zaproponowaną przez Shemesh Mayer i wsp. (2013), *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) reprezentuje kompletnie sterylny typ 1, gdyż zaburzenia następują zarówno w linii męskiej (podczas mikrosporogenezy na początku profazy I) oraz w linii żeńskiej (linia żeńska – dane niepublikowane). *A. sativum* cv. Harnaś można zaliczyć do męsko-sterylnego typu 2, ponieważ blokada rozwoju męskiego gametofitu następuje pod koniec telofazy II (tetradą mikrospor). Natomiast *A. sativum* cv. Arkus produkuje ziarna pyłku, które jednak są sterylne, w związku z tym gatunek ten zaliczymy do męsko-sterylnego typu 3 (Ryc. 2, szary słupek).

Opisane powyżej przejawy sterility u czosnku, badane na poziomie komórkowym i prowadzone z wykorzystaniem tradycyjnych technik badawczych (LM, TEM, SEM), umożliwiały obserwacje jedynie bardzo zaawansowanych cytologicznie zmian strukturalnych, na końcowych etapach degeneracji mejocytów lub mikrospor. Zatem, rejestrowane patologiczne zmiany morfologiczne były końcowym efektem wcześniejszych, nieznanych przemian biochemicznych zachodzących w obrębie degenerujących komórek. W związku z tym, tradycyjnymi metodami nie mogłam określić, na jakim etapie rozwojowym w mikrosporze pojawiają się zmiany patologiczne. Wiedza ta pomogłaby wskazać zależności przyczynowo–skutkowe warunkujące męską sterility u czosnku. Zatem w ramach realizowanych prac badawczych podjęłam próbę określenia zmian biochemicznych na poszczególnych etapach rozwoju męskiego gametofitu w korelacji z zaburzeniami na poziomie komórkowym. W badaniach zastosowałam nowatorskie podejście analityczne wykorzystujące zaawansowany system mikroskopii konfokalnej oparty o mikroskop firmy Zeiss LSM780, umożliwiający analizy spektralne związków chemicznych wchodzących w skład poszczególnych struktur komórkowych na poziomie pojedynczej żywej komórki roślinnej. Obrazowanie z wykorzystaniem analiz spektralnych jest możliwe dzięki charakterystycznym parametrom licznych związków chemicznych, które mają właściwości fluoroforów, i naturalnie występują w komórkach roślinnych. Związki te wykazują specyficzne parametry biofizyczne związane z ich fluorescencją w zakresie określonej długości fali, co umożliwia przeprowadzenie ogólnej identyfikacji tych związków w poszczególnych strukturach komórkowych. W swoich analizach uwagę skupiłam na kalozowej ścianie otaczającej PMC. Należy wspomnieć, że podczas prawidłowej mikrosporogenezy w początkowych etapach mejozy warstwa kalozy wokół mejocytów zwiększa się, podczas gdy na końcowym etapie – w telofazie II, kalozą jest stopniowo degradowana przez enzym kalazę, co prowadzi do uwolnienia haploidalnych mikrospor. Procesy te są ściśle zsynchronizowane z poszczególnymi stadiami mejotycznymi, a wszelkie

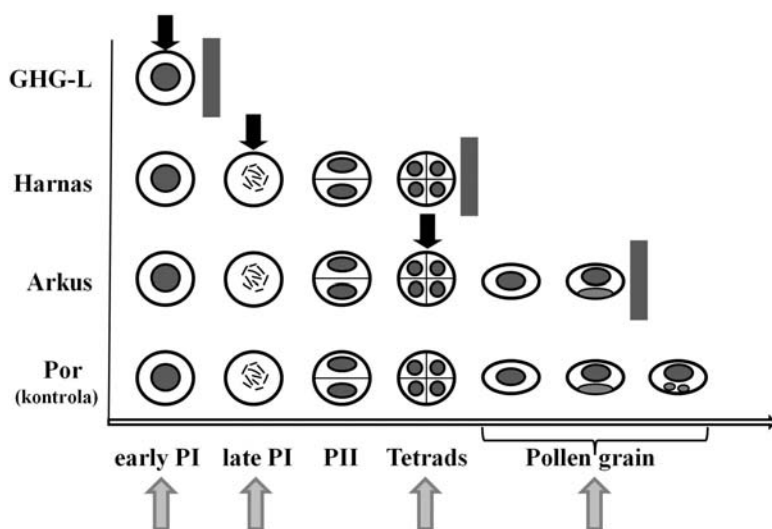
zaburzenia mogą mieć fundamentalne znaczenie w formowaniu funkcjonalnych ziaren pyłku.

W celu określenia zmian biochemicznych w ścianie kalozowej, wykorzystałam tzw. obrazowanie spektralne w pełnym zakresie widma autofluorescencji (*Autofluorescence Spectral Imaging* – ASI). Badanie ASI pozwoliło na wykonanie analiz porównawczych biofizycznych/biochemicznych parametrów kalozowej ściany PMC we wszystkich stadiach mejozy u GHG-L, *A. sativum* cv. Harnaś i cv. Arkus oraz *A. ampeloprasum*. Analizie ASI poddano także sporodermę ziaren pyłku u czosnku cv. Arkus i u pora. Dodatkowo zwróciłam uwagę na autofluorescencję tkanki odżywczej (tapetum) u sterylnych gatunków w porównaniu z płodną kontrolą. W oparciu o zastosowaną analizę ASI stwierdziłam, że na pierwszym etapie mikrosporogenezy (wczesna profaza I) u wszystkich badanych gatunków autofluorescencja ściany kalozowej charakteryzowała się tym samym rozkładem widma emisyjnego, a analiza spektralna wskazała, że dominuje widmo w zakresie światła fioletowego. Jednakże zaobserwowałam istotne różnice w intensywności fluorescencji, przy czym największe różnice, w porównaniu z kontrolą (por), wykazywała ściana kalozowa GHG-L, u którego blokada mikrosporogenezy wystąpiła najwcześniej. Na kolejnym etapie, tj. późnej profazy I u *A. sativum* cv. Harnaś, na którym to etapie obrazowanie w LM nie wykazało żadnych nieprawidłowości, analiza spektralna otrzymanego widma ściany kalozowej pokazała istotne zmiany w zakresie fioletowo-niebieskiego spektrum światła oraz pojawiła się dodatkowa autofluorescencja w zielono-żółtym zakresie zarejestrowanego widma, który pod koniec profazy I dominuje, a całkowicie zanika autofluorescencja w fioletowo-niebieskim zakresie, czego nie obserwujemy ani u czosnku cv. Arkus ani u płodnego pora. Należy podkreślić, że od tego etapu mejozy ściana kalozowa u cv. Harnaś wykazywała całkowicie odmienną autofluorescencję w stosunku do kalozy pora. Co ciekawe zmianę w autofluorescencji kalozowej ściany, podobną do wyżej opisanej u czosnku cv. Harnaś, zaobserwowałam u *A. sativum* cv. Arkus na etapie tetrady mikrospor pomimo tego, że morfologicznie struktura ta nie różniła się od płodnej kontroli. Na podstawie analizy spektralnej można stwierdzić, że w stadium tetrad mikrospor ściana kalozowa czosnku u cv. Arkus posiadała odmienną kompozycję chemiczną w stosunku do kalozy pora. Ponadto analiza ta ujawniła brak obecności sporodermi, której formowanie rozpoczyna się w tym stadium u płodnego pora. Na końcowym etapie badań przeanalizowałam parametry biofizyczne sporodermi jednojądrowych ziaren pyłku u *A. sativum* cv. Arkus i *A. ampeloprasum*. Analizy te wykazały, że tak jak w obrębie kalozowej ściany na etapie tetrady mikrospor, także w obrębie sporodermi występują zaburzenia metaboliczne, które w konsekwencji mogą powodować sterylność *A. sativum* cv. Arkus. Na uwagę zasługuje fakt, że w czasie rozwoju męskiego gametofitu, niezwykle ważną rolę odgrywa tkanka odżywcza, tapetum, w związku z tym komórki tapetum zostały poddane analizie ASI, we wszystkich stadiach mejozy PMC. Otrzymane spektra autofluorescencji komórek tapetum były identyczne u wszystkich analizowanych gatunków wskazując, że tapetum posiada podobne parametry biofizyczne, a co za tym idzie, może posiadać zbliżoną aktywność biologiczną zarówno u sterylnych badanych gatunków jak i płodnego pora.

Podsumowując, można stwierdzić, że analiza ASI pozwoliła na zaobserwowanie ilościowo/jakościowych zmian w zakresie kompozycji związków chemicznych w obrębie kalozowej ściany PMC u wszystkich badanych gatunków. Na bazie otrzymanych analiz spektralnych wykazałam, że zaburzenia w procesie mikrosporogenezy na poziomie

formowania się ściany kalozowej u wszystkich badanych gatunków sterylnych, zachodzą już na bardzo wczesnym etapie rozwoju męskiego gametofitu (Ryc. 2, czarna strzałka). Otrzymane za pomocą analiz ASI charakterystyczne spektra wskazują, że prawdopodobnie w trakcie rozwoju mikrospory na etapie późnej profazy I (u czosnku cv. Harnaś), w ścianie kalozowej pojawiają się zaburzenia w poziomie kwasów fenolowych, np. kwasu hydroksycynamonowego, którego wysoki poziom jest prawdopodobnie niezbędnym elementem do prawidłowego rozwoju ściany kalozowej na wczesnym etapie rozwoju ziarna pyłku. Ponadto analizy ASI wskazały, że zmiany w kompozycji licznych polifenoli w kalozie na późniejszych etapach rozwoju męskiego gametofitu (np. telofazie II u czosnku cv. Arkus), prawdopodobnie mają istotny wpływ na rozpad tej struktury i uformowanie płodnego ziarna pyłku. Należy podkreślić, że zmian tych nie można było zaobserwować tradycyjnymi metodami stosowanymi dotychczas w badaniach embriologicznych (LM, TEM, SEM). W związku z tym technika ASI może być cennym narzędziem badawczym znacząco poszerzającym możliwości konwencjonalnych badań cytologiczno-embriologicznych. Chcę nadmienić, iż technika ASI nie była dotychczas stosowana szeroko w analizach anatomiczno-embriologicznych materiału roślinnego, w związku z tym implementacja tej techniki w polskim środowisku naukowych otwiera nową drogę eksperymentalną. Ponadto, biofizyczna charakterystyka zaburzeń metabolicznych na wczesnym etapie formowania męskiego gametofitu, może posiadać ciekawy aspekt aplikacyjny, m.in. pozwoli w praktyce na wybór najlepszych ekotypów czy odmian hodowlanych czosnku wykorzystywanych do badań nad

przełamaniem męskiej sterylności u tego gatunku.



Ryc. 2. Etapy mikrosporogenezy i gametogenezy analizowane w CLM (szara strzałka). Nieprawidłowe zmiany autofluorescencji w obrębie kalozowej ściany otaczającej PMC (czarna strzałka): PI wczesna – *Allium ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L); PI późna – *A. sativum* cv. Harnaś; Tetrady mikrospor – *A. sativum* cv. Arkus. Prawidłowa autofluorescencja kalozowej ściany – *A. ampeloprasum* (por). Zamieranie mejiocytów lub ziaren pyłku – szary słupek.

Analiza stanu metabolicznego tkanki odżywczej – tapetum z wykorzystaniem czasów życia fluorescencji (Fluorescence Lifetime Imaging –FLIM) jako metody analitycznej

Wyniki te przedstawiono w publikacji: *Tchórzewska D., Luchowski R., Gruszecki W.I., Winiarczyk K. (2018) Comparative studies of live tapetum cells in sterile garlic (*Allium sativum*) and fertile leek (*Allium ampeloprasum*) using the fluorescence lifetime imaging analytical method. *South African Journal of Botany*, DOI 10.1016/j.sajb.2018.05.021.

*autor korespondencyjny

W badaniach prowadzących do określenia mechanizmów leżących u podstaw męskiej

sterylności u *A. sativum* skupiałam się nie tylko na komórkach generatywnych, ale także zwróciłam uwagę na stan metaboliczny tkanki odżywczej (tapetum) podczas rozwoju męskiego gametofitu u czosnku. Należy nadmienić, że tapetum stanowi niezwykle istotny element w procesie mikrosporogenezy, gdyż nawet nieprawidłowa czasowa korelacja programowanej śmierci tapetum (ang. developmental PCD – dPCD) z formowaniem i dojrzewaniem męskiego gametofitu, może prowadzić do męskiej sterylności u roślin. Należy podkreślić, iż klasyczne obrazowanie komórek tapetum wykorzystujące mikroskopię świetlną czy mikroskopię elektronową, podobnie jak ma to miejsce w przypadku mikrospor, wnosi jedynie ogólny wgląd w obraz morfologiczny komórek, jedynie na końcowych etapach zmian patologicznych, co znacząco utrudnia jednoznaczne określenie przyczyn zaburzeń rozwojowych. Zaprezentowana praca stanowi kontynuację wcześniejszych badań z wykorzystaniem technik biofizycznych do obrazowania komórek roślinnych (*Autofluorescence Spectral Imaging* – ASI). Pomimo interesujących obserwacji dotyczących rozwoju męskiego gametofitu u czosnku, otrzymanych z wykorzystaniem ASI, metoda ta posiada ograniczenia, które nie pozwoliły mi na biofizyczną charakterystykę tapetum. W konsekwencji skierowałam swoją uwagę na technikę obrazowania wykorzystującą zjawisko tzw. czasów życia fluorescencji, zwaną ang. *Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy* – FLIM. Obrazowanie z wykorzystaniem FLIM należy do nowatorskich technik w mikroskopii fluorescencyjnej i nie jest jeszcze powszechnie stosowane do analiz cytologiczno/anatomocnych tkanek roślinnych, aczkolwiek pojawiają się już doniesienia naukowe wykorzystujące tę technikę do analizy materiału roślinnego. FLIM stanowi bardzo czułe narzędzie do badań licznych związków organicznych o charakterze fluoroforów, które w dużej ilości występują w komórkach roślinnych. Parametry tych związków, mierzone techniką FLIM, opisywane jako tzw. czasy życia fluorescencji, są uzależnione od stanu metabolicznego komórki. Analizie takiej można poddawać przede wszystkim komórki żywe, dzięki czemu eliminuje się chemiczne utrwalanie badanej tkanki, co jak wiadomo często zniekształca ostateczny obraz tkanki, a co najważniejsze nie zapewnia wglądu w stan metaboliczny badanej komórki.

Przy zastosowaniu tradycyjnych metod obrazowania tj. LM, TEM i SEM, stwierdziłam, że cytologicznie i morfologicznie tapetum podczas mikrosporogenezy u *A. sativum* cv. Harnaś i cv. Arkus różniło się od tapetum u płodnej kontroli (por) jedynie na etapie zamierania mikrospor (cv. Harnaś) i zamierania ziaren pyłku (cv. Arkus). Natomiast, monitorowanie komponentów chemicznych komórek tapetum za pośrednictwem czasów życia fluorescencji (FLIM), pozwoliło na określenie stanu metabolicznego tej tkanki u czosnku cv. Harnaś i cv. Arkus w stosunku do płodnego pora. W toku badań stwierdziłam, wysoką heterogenność zarejestrowanych czasów życia fluorescencji generowanych przez metabolity tapetum, co można powiązać z zaburzeniami w dPCD tej tkanki podczas mikrosporogenezy u *A. sativum* cv. Harnaś i cv. Arkus. Obserwacja ta może wskazywać, że zamieranie tapetum nie zachodzi synchronicznie w stosunku do rozwoju mikrospor. Należy podkreślić, że zaburzenia te można było zaobserwować już na bardzo wczesnych etapach rozwoju męskiego gametofitu, czyli w początkowych fazach programowanej śmierci tapetum, a co za tym idzie mogą one poprzedzać zmiany patologiczne w obrębie mikrospor. Natomiast obserwowane stany metaboliczne tapetum u *A. ampeloprasum* (który stanowił płodną kontrolę) obrazowane z wykorzystaniem FLIM, wykazują homogenność w sygnale FLIM na

wszystkich etapach rozwoju mikrospor, co wskazuje na to, że zachodzą zharmonizowane przemiany w tapetum, które w konsekwencji mogą zapewnić prawidłowy rozwój mikrospor i ziaren pyłku u tego gatunku.

Łącząc wcześniejsze analizy ASI i analizy FLIM, uzupełnione o tradycyjne obrazowanie, zaproponowałam metaboliczny model rozwoju mikrospor i przemian tapetum u gatunków z rodzaju *Allium*, co pozwoli wyjaśnić przyczynę męskiej sterylności u *A. sativum*. Zaproponowałam zatem, że zaburzenia w rozwoju tapetum poprzedzają zaburzenia rozwojowe mikrospor obserwowane w formie zmian w ścianie kalozowej, a zatem obserwowany nieprawidłowy rozwój ściany kalozowej może stanowić efekt wtórny, co wskazuje, że zakłócenia koordynacji czasowej dPCD w pylniku mogą być uważane za główną przyczynę męskiej sterylności u *A. sativum* cv. Harnaś i cv. Arkus.

Chondriokineza podczas podziału mejotycznego u roślin – opracowanie aktualnej klasyfikacji

Wyniki te przedstawiono w publikacji: **Tchórzewska D. (2017) Chondriokinesis during microsporogenesis in plants. Planta, 246:1–18. DOI 10.1007/s00425-017-2706-8. *autor korespondencyjny*

U roślin w wyniku wieloetapowego procesu mikrosporogenezy, powstaje haploidalne pokolenie komórek męskiej linii generatywnej, bezpośrednio zaangażowane w rozmnażanie płciowe. Podczas mejotycznego podziału takich komórek, następuje rozdział materiału genetycznego między komórki potomne. Na sukces tego procesu składa się szereg wysoko zharmonizowanych zjawisk, które zapewniają prawidłowy przebieg kariokinezy (podział jądra) i cytokinezy (podział cytoplazmy). Już na przełomie XIX i XX wieku, obserwowano, że oprócz kariokinezy i cytokinezy, podczas podziału mejotycznego zachodzą charakterystyczne przegrupowania organelli komórkowych zwane chondriokinezą (Fullmer 1899). W późniejszych latach zauważono, że organella komórkowe (chondrion) podczas mejozy nie przemieszczają się w przypadkowy sposób, ale według określonego wzorca oraz, że przegrupowania chondrionu są równie ważne dla komórki, jak rozdział chromosomów potomnych (Guilliermond 1924). Na podstawie szeregu obserwacji, w 1938 roku, usystematyzowano chondriokinezę zachodzącą podczas podziału mejotycznego u różnych grup roślin (Bąkowski 1938). W klasyfikacji tej wyróżniono cztery główne typy chondriokinezy: obojętny, otoczkowy, biegunowy oraz równikowy. Oprócz tego opisano typy pośrednie np. otoczkowo-biegunowy oraz złożone np. obojętny w telofazie równikowy. Kluczowym kryterium, które posłużyło do określenia poszczególnych typów chondriokinezy, było położenie organelli w dwóch fazach mejozy: metafazie I i telofazie I. W opracowaniu z 1938 roku Autor opisał liczne warianty chondriokinezy, wskazując jednocześnie, że istnieje duża różnorodność rodzajów przemieszczeń organelli komórkowych podczas mejozy, które są charakterystyczne dla poszczególnych gatunków roślin. W związku z tym, że pierwsza klasyfikacja (Bąkowski 1938) została oparta na pracach pochodzących z końca XIX i początku XX wieku, wykonanych niedoskonałymi metodami i narzędziami badawczymi, w znaczący sposób ograniczało to wgląd w proces chondriokinezy. Późniejsze lata przyniosły duży postęp technologiczny, co pozwoliło nie tylko na weryfikację wcześniejszych obserwacji, ale także na znaczące poszerzenie naszej wiedzy na temat mejotycznego podziału

komórki roślinnej. Jednak, jak dotąd nie pojawiło się nowe opracowanie, klasyfikujące i rozszerzające aktualny stan wiedzy.

W związku z powyższym, wykorzystując swoje kompetencje naukowe w sposób kompleksowy opisałam chondriokinezę u wielu gatunków roślin, rozszerzyłam wcześniejszą klasyfikację np. o chondriokinezę u gatunków monoplastydowych oraz wskazałam mechanizmy molekularne, które odpowiedzialne są za rozdział chondrionu. W mojej pracy przedstawiłam 11 typów chondriokinezy z dokładnym opisem przemieszczeń organelli komórkowych na poszczególnych etapach mejozy oraz z podaniem gatunków, u których opisano takie przemieszczenia chondrionu, weryfikując i uzupełniając wcześniejszą klasyfikację. Ponadto zamieściłam, wyczerpujące zestawienie rodzajów chondriokinezy zachodzącej podczas sporo- i mikrosporogenezy wraz ze wszystkimi opisanymi dotychczas gatunkami roślin oraz autorami tego opisu, z zaznaczeniem gatunków, u których w późniejszych pracach opisywano inny rodzaj przemieszczeń organelli komórkowych, niż to przedstawia w swojej klasyfikacji Bąkowski (1938). W zestawieniu tym umieściłam także chondriokinezę monoplastydową, która dotychczas nie była klasyfikowana. Należy także podkreślić, że rola chondriokinezy nie została jak dotąd syntetycznie przedstawiona, a obecnie istnieje wiele danych wskazujących na zróżnicowane znaczenie tego procesu w podziale mejotycznym komórki roślinnej. W związku z tym w mojej pracy zwróciłam uwagę także na funkcję chondriokinezy. Proces ten zapewnia przede wszystkim efektywną segregację autonomicznych organelli komórkowych a w raz z nimi cytoplazmatycznego DNA i jego właściwe dziedziczenie, co ma fundamentalne znaczenie w formowaniu prawidłowych komórek potomnych. Ponadto, w pracy podkreśliłam, że chondriokineza, w czasie ewolucji komórki roślinnej nabyła nowe funkcje, związane ze wsparciem kariokinezy, polaryzacją mejocytów, wyznaczeniem płaszczyzny podziału, jak i formowaniem tubulinowego cytoszkieletu. Należy nadmienić, że w pracy zamieściłam aspekt molekularny, opisujący mechanizmy rządzące podziałem chondrionu w komórce roślinnej. Obecnie, jest to jedyna praca przeglądowa syntetycznie przedstawiająca proces chondriokinezy od 80 lat.

Badania porównawcze właściwości prozdrowotnych i odżywczych *A. sativum* (czosnek) oraz *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L)

Wyniki te przedstawiono w publikacji: Najda A., Błaszczyk L., Winiarczyk K., Dyduch J. and *Tchórzewska D. (2016) *Comparative studies of nutritional and health-enhancing properties in the "garlic-like" plant Allium ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) and *A. sativum*. *Scientia Horticulturae*, 201: 247–255. DOI 10.1016/j.scienta.2016.01.044 *autor korespondencyjny

Drugi nurt badawczy w mojej działalności naukowej dotyczył analizy własności prozdrowotnych i odżywczych czosnku oraz *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG). Na wstępie należy wspomnieć, że do rodzaju *Allium* należą gatunki zaliczane do geofitów cebulowych, które charakteryzują się dużym zróżnicowaniem zarówno pod względem morfologicznym jak i fizjologicznym. Należą tu zarówno rośliny uprawne, mające duże znaczenie przemysłowe, jak i gatunki dziko rosnące. Badany przeze mnie GHG jest rośliną uprawianą niekomercyjnie we wschodniej Polsce, niezadomowioną. Do celów badawczych, użyty materiał roślinny został nazwany GHG-L, z dopiskiem "L" z racji na źródło

pochodzenia (Lublin).

Pierwszym etapem moich badań było określenie pozycji filogenetycznej GHG-L wśród innych gatunków należących do rodzaju *Allium*. Analizy genetyczne przeprowadzono we współpracy z Zakładem Genetyki Patogenów i Odporności Roślin, PAN w Poznaniu. W toku tych badań z liści *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L), wyizolowano DNA i wykonano badania genetyczne w celu identyfikacji rośliny na bazie charakterystycznych sekwencji kodujących rybosomalny RNA. U GHG-L zidentyfikowano 2 allele GHG-L(a) i GHG-L(b), następnie uzyskane sekwencje nukleotydowe porównano z dostępnymi sekwencjami, zdeponowanymi w bazie danych GenBank, NCBI. Na podstawie analizy filogenetycznej można stwierdzić, że allel GHG-L(a) jest identyczny z allelami gatunków należących do *A. ampeloprasum* (por) a GHG-L(b) wykazuje homologię z allelami *A. sativum* (czosnku). Uzyskane sekwencje nukleotydowe zdeponowano w bazie National Center for Biotechnology Information (GeneBank): Rekord nr: KT809295, Rekord nr: KT809296. Można zatem podsumować, że badany materiał roślinny, tj. GHG-L, filogenetycznie jest blisko spokrewniony zarówno z czosnkiem, jak i porem. Przeprowadzona identyfikacja genetyczna, pozwoliła na wprowadzenie *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) do kolekcji Ogrodu Botanicznego Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie (nr katalogowy 105/2013).

Posiadając zdefiniowany genetycznie materiał roślinny, przeprowadziłam badania w celu opisanego cech fenotypowo-morfologicznych GHG-L w stosunku do czosnku i pora, według klasyfikacji opracowanej dla czosnku i opisanej przez Keller (2002). Stwierdziłam, że na wczesnych etapach rozwoju młody pęd GHG-L, a następnie starsze liście pokrojem i wielkością są podobne do liści pora. U GHG-L liści zwykle jest od 9 do 11 i po osiągnięciu takiej liczby wyrasta długi (ok. 1,5 m) pęd kwiatostanowy. Pęd kwiatostanowy jest wyprostowany i posiada kwiatostan typu baldach, który na początku rozwoju okryty jest szerokim przekształconym liściem okrywy, tzw. pochwą kwiatostanową. Kwiatostan złożony jest tylko z pojedynczych kwiatów, brak elementów płonnych – cebulek powietrznych, charakterystycznych dla czosnku. Następnie przeanalizowałam budowę morfologiczną pędu podziemnego GHG-L i stwierdziłam, że tworzy on jasnożółtą cebulę, która jest podzielona na ząbki. Dojrzałe cebule GHG-L osiągają duże rozmiary (do około 11 cm średnicy), ząbków jest niewiele (3-6), ale mają dużą średnicę, pojedynczy ząbek może osiągnąć nawet 6 cm średnicy. Podsumowując można stwierdzić, że pęd nadziemny GHG-L wraz z kwiatostanem morfologicznie podobny jest do pora, natomiast pęd podziemny ma formę cebuli podzielonej na ząbki jak u czosnku, jednak średnica takiej cebuli jest znacznie większa u GHG-L niż u czosnku.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż GHG-L charakteryzuje się łagodniejszym zapachem i smakiem w stosunku do czosnku, co może sugerować, że odżywczo i prozdrowotnie nie jest rośliną tak wartościową jak powszechnie używany czosnek. W związku z tym, przeprowadziłam porównawcze badania biochemiczne GHG-L i czosnku we współpracy z dr hab. Agnieszką Najdą z Laboratorium Jakości Warzyw i Surowców Zielarskich, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Wykonano jakościowe i ilościowe badania składu poszczególnych aminokwasów endogennych w liściach i podziemnej cebuli u GHG-L oraz *A. sativum*. Spośród 10 przebadanych aminokwasów w liściach, tylko 3 występują w większej ilości u czosnku, natomiast w podziemnej cebuli u GHG-L ilość

wszystkich przebadanych aminokwasów jest wyższa. Ponadto na 7 przeanalizowanych aminokwasów egzogennych, zarówno w liściach, jak i podziemnej cebuli, tylko jeden aminokwas występował w większej ilości u czosnku. Podsumowując, całkowita ilość aminokwasów endo- i egzogennych zarówno w liściach, jak i cebuli u GHG-L przewyższa znacznie wartości zanotowane u czosnku wskazując, że GHG-L posiada lepsze walory odżywcze. Drugą, bardzo istotną grupę substancji bioaktywnych, o wysokim znaczeniu w diecie człowieka, stanowią związki zaliczane do polifenoli. Całkowita ilość polifenoli i kwasów fenolowych, zarówno w liściach, jak i w cebuli była wyższa u GHG-L niż u czosnku.

Podsumowując można stwierdzić, że GHG-L jest gatunkiem blisko filogenetycznie spokrewnionym zarówno z porem, jak i czosnkiem. Pęd nadziemny GHG-L wraz z kwiatostanem morfologicznie podobny jest do pora, natomiast pęd podziemny ma formę cebuli podzielonej na ząbki, jak u czosnku. Natomiast jeśli chodzi o właściwości odżywcze, GHG-L przewyższa czosnek, tj. zawiera większą ilość badanych aminokwasów endo- i egzogennych oraz związków fenolowych.

Wpływ poziomu opadów atmosferycznych oraz temperatur na plonowanie i poziom allicyny u *A. sativum* (czosnek) oraz *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L)

Wyniki te przedstawiono w publikacji: **Tchórzewska D., Bocianowski J., Najda A., Dąbrowska A., Winiarczyk K. (2017) Effect of environment fluctuations on biomass and allicin level in Allium sativum (cv. Harnas, Arkus) and Allium ampeloprasum var. ampeloprasum (GHG-L). Journal of Applied Botany and Food Quality, 90:106–116. DOI JABFQ.2017.090.013. *autor korespondencyjny*

Takie cechy klimatu jak temperatura i opady, są głównymi czynnikami abiotycznymi środowiska, wpływającymi na plonowanie u roślin uprawnych. Obserwowane obecnie w Europie zmiany klimatu, a przede wszystkim tendencja wzrostowa średnich miesięcznych temperatur oraz zmniejszania się ilości opadów atmosferycznych, uzasadniają przeprowadzenie systematycznych analiz umożliwiających opisanie i wyselekcjonowanie gatunków roślin, nie tylko posiadających jak najlepsze cechy użytkowe, ale także najlepiej przystosowujących się do zmian klimatycznych. Dlatego tak ważnym jest, aby prowadzić badania porównawcze kluczowych cech czosnku w kontekście wpływu złożonych czynników klimatycznych, na jego rozwój i plonowanie. Jednak, jak dotąd, brak jest informacji opisujących wpływ środowiska na istotne z punktu widzenia użytkowego cechy czosnku, takie jak plonowanie oraz zawartość związków biologicznie aktywnych, obecnych w częściach podziemnych tej rośliny.

Zatem, mając na względzie powyższe aspekty, zainicjowałam fenologiczno-morfologiczno-biochemiczne badania porównawcze *A. sativum* cv. Harnaś i cv. Arkus oraz *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) w celu przeanalizowania cech ważnych ekonomicznie (ocena biomasy i poziomu allicyny) oraz wpływu fluktuacji środowiskowych na te cechy. Wszystkie badane rośliny hodowano w uprawie ekologicznej (bez użycia herbicydów i pestycydów). Badania prowadzono w okresach wegetacyjnych w latach 2013/2014 oraz 2014/2015, które diametralnie różniły się średnimi temperaturami i sumami opadów atmosferycznych. Lato w 2014 roku było typowe dla klimatu umiarkowanego, natomiast w 2015 roku wystąpiły znacznie wyższe temperatury i zanotowano okresową suszę

w okresie wegetacyjnym.

Przeprowadzone analizy fenologiczne wykazały, że niektóre etapy w rozwoju badanych gatunków, takie jak: utworzenie pierwszego liścia i utworzenie pędu kwiatostanowego u czosnku cv. Arkus i cv. Harnaś zachodzą synchronicznie, natomiast u GHG-L zachodziły w późniejszym terminie niż u czosnku. Na podstawie obserwacji prowadzonych w dwóch kolejnych sezonach wegetacyjnych (2013/2014 i 2014/2015), które znacznie różniły się sumami opadów oraz średnimi dziennymi temperaturami, stwierdziłam, że nie występują istotne różnice w fenologii badanych taksonów. Można zatem powiedzieć, że jeśli chodzi o periodyczne etapy rozwoju roślin, wystąpiły nieznaczne różnice między czosnkiem a GHG-L oraz brak istotnych różnic w związku z fluktuacją pogody. Co ciekawe, badania morfologii części nadziemnej także wskazały na niewielkie różnice między badanymi gatunkami oraz brak wpływu średnich opadów i temperatury na te organy. Można zatem stwierdzić, że w początkowych etapach wzrostu zasoby wody zgromadzone w glebie we wczesnych miesiącach wiosennych były wystarczające do efektywnego rozwoju części nadziemnej, a okresowe niedobory opadów atmosferycznych mające miejsce w późniejszym etapie rozwoju rośliny, nie wywołały negatywnego efektu w obrębie pędów nadziemnych.

Następnie przeprowadziłam analizy porównawcze biomasy części podziemnej czosnku i GHG-L oraz poziomu allicyny, ważnej bioaktywnej substancji charakterystycznej dla gatunków z rodzaju *Allium*. Analiza porównawcza morfologii części podziemnych pozwoliła stwierdzić, że cechy takie jak kształt cebuli i rozmieszczenie ząbków były takie same u wszystkich badanych gatunków, natomiast różniły się one kolorem i liczbą ząbków w cebuli. Ponadto GHG-L posiadał charakterystyczne cebulki osadzone na szypułkach, czego nie obserwowano u czosnku cv. Harnaś i cv. Arkus. Analizując dwa sezony wegetacyjne, możemy powiedzieć, że różnice średnich temperatur i sumy opadów nie miały wpływu na wyżej wymienione cechy części podziemnych u cv. Harnaś, cv. Arkus i GHG-L. Natomiast analizując plonowanie poprzez pomiary średnicy i wagi cebul i ząbków u badanych roślin stwierdziłam, że występują różnice pomiędzy cv. Harnas, cv. Arkus i GHG-L. Przy czym należy podkreślić, że różnice te pomiędzy cv. Harnas i cv. Arkus są niewielkie, natomiast u GHG-L zanotowano znacznie większą średnicę oraz wagę cebul i ząbków w porównaniu do czosnku. GHG (zwany także popularnie „elephant garlic”) znany jest z dużych rozmiarów podziemnej cebuli i jest uprawiany na wszystkich szerokościach geograficznych jako zamiennik czosnku (Figliuolo i wsp. 2001; Hirschegger i wsp. 2010). Można zatem stwierdzić, że istotna ekonomicznie cecha, jaką jest rozmiar cebul, stawia GHG na pierwszym miejscu wśród gatunków z rodzaju *Allium*. Na uwagę zasługuje także analiza porównawcza poziomu plonowania badanych roślin w dwu sezonach wegetacyjnych o znacząco różnej pogodzie. Zaobserwowano, że występujące w 2015 roku okresowe susze, zwłaszcza w miesiącu czerwcu i lipcu, miały istotny wpływ na wielkość i masę części podziemnych u badanych gatunków. Wszystkie rośliny w 2015 roku tworzyły cebule o mniejszej średnicy i wadze w stosunku do 2014 roku, co wskazuje na to, że w wyniku niekorzystnych warunków termicznych i wilgotnościowych, nastąpiło obniżenie plonu u wszystkich badanych kultywarów. Należy podkreślić, że niezależnie od obniżenia plonowania, GHG-L posiadał wyższą biomasę w stosunku do czosnku w obu analizowanych sezonach wegetacyjnych. Jak wspomniałam, GHG-L ma znacznie łagodniejszy od czosnku smak i zapach, zatem nasuwa się pytanie czy gatunek ten ma niższy poziom allicyny, a co za tym idzie słabsze właściwości

antybakteryjne od tradycyjnie uprawianego czosnku. W trakcie prowadzonych prac badawczych, we współpracy z Laboratorium Jakości Warzyw i Surowców Zielarskich, UP w Lublinie, wykonałam analizy poziomu allicyny w podziemnej cebuli u *A. sativum* cv. Harnaś i cv. Arkus oraz GHG-L, w celu określenia właściwości prozdrowotnych oraz wpływu czynników pogodowych na poziom allicyny u badanych gatunków. Badania porównawcze tego związku w cebuli (ząbkach), przyniosły interesujące wyniki. Poziom allicyny zawartej w ząbkach był zróżnicowany nie tylko między cv. Harnaś, cv. Arkus i GHG-L, ale co ważniejsze także między sezonami badawczymi. Na uwagę zasługuje fakt, że u wszystkich badanych roślin w 2015 roku poziom allicyny był wyższy, pomimo tego, że plon był niższy w stosunku do 2014 roku. Zanotowane różnice temperatur oraz sumy opadów – okresowe duże niedobory wody w 2015 roku, spowodowały gromadzenie substancji czynnych w organach spichrzowych (cebuli) u wszystkich badanych taksonów.

Podsumowując należy podkreślić, że niezależnie od fluktuacji pogodowych, GHG-L posiadał znacznie wyższą biomasę oraz wyższy poziom allicyny niż czosnek hodowany w tych samych warunkach. Co ciekawe, niekorzystne warunki termiczne i wilgotnościowe, pomimo obniżenia plonowania, u czosnku i GHG-L, podwyższają parametry prozdrowotne, w formie zwiększonej produkcji allicyny. Można zatem stwierdzić, że przeprowadzone analizy pozwoliły nie tylko na wskazanie, które z cech *A. sativum* i GHG-L podlegają modyfikacji w wyniku zmiennych klimatycznych, ale także które z badanych gatunków są lepiej przystosowane do niekorzystnych zmian klimatycznych.

4.4.5. Wnioski wynikające z przeprowadzonych badań wchodzących w skład osiągnięcia

Najważniejsze wnioski wynikające z moich badań przeprowadzonych w ramach jednotematycznej serii prac stanowiących osiągnięcie naukowe są następujące:

1. Badania rozwoju męskiego gametofitu u sterylnych gatunków z rodzaju *Allium* wskazały, że:

- zahamowanie rozwoju męskiego gametofitu u *A. sativum* cv. Harnaś oraz *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) zachodzi na różnych etapach mikrosporogenezy, tj. u GHG-L zaburzenia następują podczas mikrosporogenezy na początku profazy I, u *A. sativum* cv. Harnaś blokada rozwoju męskiego gametofitu następuje pod koniec telofazy II (tetradą mikrospor), *A. sativum* cv. Arkus wprawdzie produkuje ziarna pyłku, które są jednak sterylne. Natomiast *A. ampeloprasum* formuje żywotne, zdolne do zapłodnienia ziarna pyłku. Wyniki te wskazują na to, że istnieje duża różnorodność w przejawach sterylności u czosnku.
- tubulinowy cytoszkielet w mikrosporogenezie u sterylnego czosnku i płodnego pora nie różni się jakościowo, ale występują wyraźne różnice ilościowe (szczególnie w konfiguracjach na etapie metafazy I, II i w tetradzie mikrospor), co nie wpływa na przebieg kariokinezy, chondriokinezy czy cytokinezy i w konsekwencji następuje zakończenie mikrosporogenezy. Jednakże zaburzenia w formowaniu cytoszkieletu kortykalnego na etapie tetrady mikrospor, wpływając na upośledzenie transportu wewnątrzkomórkowego, mogą przyczyniać się do degeneracji mikrospor na samym początku gametogenezy u badanego *A. sativum*.

- ściana kalozowa mejocytów podczas mikrosporogenezy u sterylnego *A. sativum* cv. Harnaś, cv. Arkus, *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* już na bardzo wczesnych etapach rozwoju męskiego gametofitu wykazuje znaczące różnice w składzie biochemicznym w stosunku do płodnej kontroli (*A. ampeloprasum*). Wykorzystanie metody biofizycznej, takiej jak spektralna analiza autofluorescencji z użyciem mikroskopu konfokalnego (Autofluorescence Spectral Imaging – ASI) pozwoliło zarejestrować tego typu zmiany, czego nie można było uchwycić tradycyjnymi metodami obrazowania (LM). Obserwowana autofluorescencja u badanych sterylnych gatunków wskazuje na niski poziom kwasów fenolowych w kalozie, co może być przyczyną patologicznych zmian w rozwoju mikrospory już na bardzo wczesnym etapie rozwoju męskiego gametofitu. Niekorzystne fluktuacje w składzie polifenoli w późniejszych etapach jej rozwoju mogą przyczyniać się do zaburzeń w rozpadzie kalozy i formowaniu ziaren pyłku.
- zmiany metaboliczne w obrębie tkanki odżywczej (tapetum) u czosnku zachodzą w sposób nieskoordynowany, co wskazuje na zaburzenia w procesie apoptozy w komórkach tapetum, zaś u płodnego pora tapetum wykazuje harmonijne przemiany, co może bezpośrednio rzutować na prawidłowy rozwój męskiego gametofitu u tego gatunku. Wykorzystanie alternatywnej metody obrazowania, tj. Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy - FLIM wniosło nową jakość w obrazowaniu przede wszystkim zmian metabolicznych, co jest poza zasięgiem tradycyjnych metod mikroskopowych. Połączenie danych z wykorzystaniem ASI i FLIM pozwoliło na zaproponowanie modelu metabolicznego, który wskazuje, że zaburzenia w dPCD tapetum mogą stanowić zasadniczą przyczynę męskiej sterylności u czosnku, zaś patologiczne zmiany rozwojowe mikrospor są tego efektem.

2. Opracowanie aktualnej klasyfikacji chondriokinezy u roślin (ostatnio opisanej w 1938 roku) pozwoliło na rozszerzenie wiedzy dotyczącej jednego z aspektów rozwoju męskiego gametofitu:

- uzupełniłam klasyfikację chondriokinezy w oparciu o opis procesu u nowych gatunków roślin oraz zweryfikowałam opisy i klasyfikację z początku XX wieku,
- rozszerzyłam klasyfikację o chondriokinezę monoplastydową,
- opisałam rolę chondriokinezy w procesie formowania męskiego gametofitu u roślin,
- przedstawiłam mechanizmy molekularne rządzące podziałem chondrionu w komórce roślinnej.

3. Określenie pozycji filogenetycznej, cech fenologicznych i morfologicznych oraz zbadanie właściwości prozdrowotnych i odżywczych *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) w porównaniu z powszechnie uprawianym *A. sativum* wskazały, że:

- hodowany niekomercyjnie *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) jest filogenetycznie blisko spokrewniony zarówno z porem, jak i czosnkiem,
- analiza porównawcza cech fenologicznych i morfologicznych *A. sativum* i *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) wykazała, że jeśli chodzi o okresowe

etapy rozwoju analizowanych roślin, wystąpiły nieznaczne różnice pomiędzy czosnkiem a GHG-L, natomiast morfologicznie pęd nadziemny GHG-L wraz z kwiatostanem podobny jest do pora w przeciwieństwie do pędu podziemnego, który ma formę cebuli podzielonej na ząbki jak u czosnku.

- jakościowe i ilościowe badania biochemiczne aminokwasów endogennych, aminokwasów egzogennych, polifenoli, kwasów fenolowych w liściach i cebuli oraz badania poziomu allicyny w cebuli *A. sativum* i GHG-L wykazały, że w swoich właściwościach prozdrowotnych i odżywczych *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) przewyższa *A. sativum*,
- analiza wpływu temperatury oraz warunków wilgotnościowych na plonowanie i poziom allicyny u GHG-L oraz czosnku wykazała, że niezależnie od warunków klimatycznych GHG-L przewyższał czosnek produkowaną biomasą oraz poziomem allicyny w pędzie podziemnym. Zatem, GHG-L jest rośliną znacznie lepiej przystosowaną do zmiennych i niekorzystnych warunków środowiskowych niż tradycyjnie uprawiany czosnek.

Cytowana literatura

- Akinmusire OO, Omomowo IO, Usman IM (2014) Evaluation of the phytochemical properties and antifungal activities of ethanol extract of *Allium sativum*. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 3(10):143–149
- Bąkowski Z (1938) Versuch einer Klassifizierung der Chondriokinese bei Kormophyten. *Acta Soc Bot Pol* 15:323–369
- Bhagyalakshmi N, Thimmaraju R, Venkatachalam L, Chidambara Murthy KN, Sreedhar RV (2005) Nutraceutical applications of garlic and the intervention of biotechnology. *Crit Rev Food Sci* 45:609–621
- Brown RC, Lemmon BE (2001) Sporogenesis in eusporangiate ferns: II. Polyplastidic meiosis in *Ophioglossum* (Ophioglossales). *J Plant Res* 114:237–246
- Buddoff M, Takasu K, Flore F, Niihara Y, Lu B, Lau B, Rose R, Amagase H (2004) Inhibiting progression of coronary calcification using aged garlic extract in patients receiving statin therapy: a preliminary study. *Prev Med* 39:985–991
- Etoh T (1986) Fertility of the garlic clones collected in Soviet Central Asia. *J Japan Soc Hort Sci* 55:312–319
- Etoh T, Noma Y, Nishitarumizu Y, Wakamoto T (1988) Seed productivity and germinability of various garlic clones collected in Soviet Central Asia. *Mem Fac Agric Kagoshima Univ* 24:129–139
- Figliuolo G, Candido V, Logozzo G, Miccolis V, Spagnoletti Zeuli PL (2001) Genetic evaluation of cultivated garlic germplasm (*Allium sativum* L. and *A. ampeloprasum* L.). *Euphytica* 121:325–334
- Fleischauer AT, Poole C, Arab L (2000) Garlic consumption and cancer prevention: meta-analysis of colorectal and stomach cancers. *Am J Clin Nutr* 72:1047–1052
- Fozieh JM, Tahereh N, Mansour A (2014) Antibacterial activity of garlic (*Allium sativum* L.) on multi-drug resistant *Helicobacter pylori* isolated from gastric biopsies. *Int J Enteric Pathog* 2 (2):1–6
- Fullmer EL (1899) The development of the microsporangia and microspores of *Hemerocallis fulva*. *Bot Gaz* 28:8–18
- Gebreselema G, Mebrahtu G (2013) Medicinal values of garlic: a review. *Int J Med Sci* 5(9):401–408
- Guilliermond (1924) Recherches sur l'évolution du chondriome pendant le développement du sac embryonnaire et des cellules meres des grains de pollen dans les Liliacees et sur la signification des formations ergastoplasmiques. *Ann Sc Nat Bot* 10(6):5–52
- Hirschegger P, Jakse J, Trontelj P, Bohanec B (2010) Origins of *Allium ampeloprasum* horticultural groups and a molecular phylogeny of the section *Allium* (*Allium*: Alliaceae). *Mol Phylogenet Evol* 54(2):488–497
- Jenderek MM (1998) Rozmnażanie generatywne czosnku (*Allium sativum* L.). *Zeszyty Naukowe A.R. Kraków*, 333:141–145.
- Kamenetsky R, Rabinovitch HD (2001) Floral development in bolting garlic. *Sex Plant Reprod* 13:235–241
- Kamenetsky R, Rabinowitch HD (2002) Florogenesis. In: Red. Rabinowitch HD, Currah L (eds) *Allium crop science: recent advances*. CABI, Wallingford, pp 31–58
- Keller ERJ (2002) In: Red. towill, L.E., Bajaj, Y.P.S. (Eds.), *Cryopreservation of Allium sativum L. (garlic): Biotechnology in Agriculture and Forestry, Cryopreservation of Plant Germplasm II*. Springer-Verlag, pp. 37–47

- Kononkov PE (1953) The question of obtaining garlic seed. *Sad Ogorod* 8:38–40
- Koul AK, Gohil RN (1970) Causes adverting sexual reproduction in *Allium sativum* L. *Cytology* 35:197–2002
- Lawson LD (1998) Garlic: A review of its medicinal effects and indicated active compounds. In: L.D. Lawson, R. Bauer (eds.) *Phytochemicals of Europe: their chemistry and biological activity*. American Chemical Society, Washington DC, pp. 176–209
- Novak FJ (1972) Tapetal development in the anthers of *Allium sativum* L. and *Allium longicuspis* Regel. *Experientia* 28:363–364
- Pardo JE, Escribano J, Gomez R, Alvarruiz A (2007) Physico-chemical and sensory quality evaluation of garlic cultivars. *J Food Qual* 30:609–622
- Shemesh Mayer E, Winiarczyk K, Błaszczuk L, Kosmala A, Rabinowitch HD, Kamenetsky R (2013) Male gametogenesis and sterility in garlic (*Allium sativum* L.): barriers on the way to fertilization and seed production. *Planta* 237:103–120. DOI 10.1007/s00425-012-1748-1
- Singh KV, Singh KD (2008) Pharmacological Effects of Garlic *Allium sativum* L. *Ann Rev Biomed Sci* 10:6–26

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1. Osiągnięcia przed uzyskaniem stopnia doktora

Na początku mojej kariery naukowej, przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora, podjęłam pracę w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin, UMCS w Lublinie, i włączyłam się w badania embriologiczne ukierunkowane na poznanie cytologii komórek zaangażowanych w płciowe rozmnażanie się roślin. Początkowo, prowadziłam badania w celu rozszerzenia wiedzy na temat chondriokinezy oraz struktury cytoszkieletu w komórkach dzielących się mejotycznie u paprotników. Materiał badawczy stanowił paprotnik jednakozarodnikowy *Psilotum nudum*, który reprezentuje interesujący ewolucyjnie gatunek, zaliczany przez niektórych autorów do wczesnych roślin naczyniowych (Rothwel 1999). W moich badaniach opisałam przebieg sporogenezy u *P. nudum*, w którym to procesie chondrion przemieszcza się w sposób typowy dla cytokinezy obojętnej w telofazie równikowej, a mejoza zachodzi z cytokinezą równoczesną. W trakcie realizacji zadań naukowych opisałam interesujące zjawisko, mianowicie w skład równikowej płytki organelli komórkowych (w telofazie I) wchodzi zarówno mitochondria jak i plastydy, tak jak u roślin nasiennych, a zupełnie odmiennie od paproci, u których płytka równikowa złożona jest wyłącznie z mitochondriów. Cecha ta wskazuje na to, że paprotnik *P. nudum* można określić jako formę przejściową między paprotnikami a roślinami nasennymi, co wskazuje, że gatunek ten można zakwalifikować jako żywy relikwitu wczesnych roślin naczyniowych. Rezultaty tych badań opublikowałam w czasopiśmie *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* (Tchórzewska i wsp. 1996). Ponadto w badaniach moich oprócz przeanalizowania przegrupowań organelli komórkowych skupiałam się także na mało wówczas poznanym szkielecie cytoplazmatycznym w komórkach dzielących się mejotycznie. Opisałam konfiguracje tubulinowego cytoszkieletu, który podlega dynamicznym zmianom podczas mejotycznego podziału komórek u *Ophioglossum vulgatum*. Wraz z grupą badawczą pani dr Ireny Gielwanowskiej wyniki tych badań opublikowałam w *Biologia Bratislava* (Gielwanowska i wsp. 2003). W toku realizacji badań nabyłam kompetencji w zakresie licznych technik obrazowania: mikroskopii elektronowej i świetlnej oraz immunocytochemicznego znakowania i obrazowania w mikroskopie fluorescencyjnym. W 1991 roku odbyłam staż zagraniczny w Laboratory of Plant Cell Biology, Department of Plant Sciences, Wageningen University, w Holandii, szkoląc się w zakresie nowoczesnych technik w biologii roślin, a przede wszystkim w technikach obrazowania komórek roślinnych. W 1994 roku uczestniczyłam także w

krótkoterminowym stażu naukowym, na którym uczyłam się technik dotyczących hodowli tkanek roślinnych *in vitro*, który odbył się w Zakładzie Botaniki Ogólnej, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Realizując badania ukierunkowane na opisanie cytologii komórek dzielących się mejotycznie w procesie sporogenezy u *P. nudum* oprócz kariokinezy cytokinezy i chondriokinezy przeanalizowałam tubulinowy i aktynowy cytoszkielet, a także zlokalizowałam γ -tubulinę u tego gatunku, co pozwoliło wyznaczyć centra nukleacji mikrotubul w komórkach dzielących się mejotycznie. Na podstawie tych analiz stwierdziłam, że w sporogenezie u *P. nudum* cytoszkielet tubulinowy ulegał przekształceniom w kolejnych stadiach mejozy formując cztery podstawowe konfiguracje: kortykalną sieć w cytoplazmie, wrzeczono kariokinetyczne, radialny okołojądrowy system mikrotubul i fragmoplast. Natomiast analizując aktynowy cytoszkielet w komórkach dzielących się mejotycznie u tego gatunku, zaobserwowałam, że mikrofilamenty (MF) towarzyszyły mikrotubulom (MT) we wszystkich konfiguracjach, ale oprócz tego we wszystkich fazach mejozy, w formie gęstej sieci otaczają organella komórkowe w cytoplazmie. Ponadto w telofazie I i II, tuż pod plazmolemą, MF fragmoplastu formowały charakterystyczne taśmy, które otaczały komórkę w miejscu przyszłej ściany komórkowej. Uważa się, że taki aktynowy fragmoplast jest odpowiednikiem pierścienia preprofazowego w komórkach dzielących się mitotycznie, i wyznacza miejsce, w którym zostanie uformowana pomejotyczna ściana komórkowa. Kolejnym etapem badań była immunocytochemiczna lokalizacja γ -tubuliny w sporocytach u *P. nudum*, która wykazała, że położenie γ -tubuliny jest ściśle skorelowane ze stadium mejozy. W kolejnych stadiach poprzedzających polimeryzację MT γ -tubulinę lokalizowałam na powierzchni jądra, na plazmolemie, na chromosomach i na plastydach. Badania te pozwoliły zweryfikować oraz rozszerzyć wiedzę na temat przemian strukturalnych zachodzących w komórkach podczas sporogenezy u paprotników.

Następnie swoje badania rozszerzyłam o analizy kariokinezy, cytokinezy i chondriokinezy zachodzących podczas mejozy w procesie mikrosporogenezy u roślin okrytonasiennych dwuliściennych. Materiałem badawczym była *Lavatera thuringiaca*, gatunek należący do rodziny Malvaceae, do której należą bardzo ważne przemysłowo gatunki, np. bawełana (*Gossypium arboreum*). W badaniach tych wykazałam, że u *L. thuringiaca* podczas mikrosporogenezy zachodzi cytokineza równoczesna a organella komórkowe przemieszczają się w charakterystyczny sposób, klasyfikowany jako chondriokineza otoczkowa. Kolejne analizy dotyczyły konfiguracji tubulinowego cytoszkieletu w mejocytach *L. thuringiaca*. Badania te przyniosły zaskakujące wyniki, mianowicie okazało się, że u tego gatunku tubulinowy cytoszkielet formuje konfiguracje różniące się nie tylko od tych obserwowanych u *P. nudum* ale także od tych opisywanych u roślin nasiennych. Na podstawie moich badań przedstawiłam, nigdy dotąd nie opisywane, nowe konfiguracje mikrotubul, które w formie sieci, otaczają agregaty złożone z organelli komórkowych występujących wokół jądra (w późnej profazie I i II). Ponadto zaobserwowałam także niezwykle silnie rozbudowany okołojądrowy radialny system mikrotubul, występujący w telofazie I i II u badanego gatunku, oraz obecność fragmoplastu, w niewielkiej przestrzeni pozbawionej organelli komórkowych, między agregatami złożonymi z organelli komórkowych otaczających jądra potomne. Podsumowując można stwierdzić, że u *L. thuringiaca* w mejocytach podczas mikrosporogenezy występuje rzadko

spotykany u innych gatunków sposób przemieszania się organelli komórkowych, oraz charakterystyczne konfiguracje mikrotubul, nigdy dotychczas nie opisywane.

Wyniki powyższych badań zostały umieszczone w pracy doktorskiej pt. „Wpływ szkieletu cytoplazmatycznego na przemieszczenia organelli komórkowych w mejozie u kilku gatunków roślin”, którą wykonałam pod kierunkiem prof. dr hab. Józefa Bednary, i zrealizowałam w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin, Instytut Biologii, UMCS.

W okresie przed doktoratem brałam udział w opracowaniu podręcznika dla studentów zawierającego 11 rozdziałów (w sumie 250 stron), obejmujących zagadnienia dotyczące embriologii roślin okrytonasiennych. Jako współautor uczestniczyłam w zebraniu materiałów źródłowych, w opracowaniu i korekcie tekstu oraz przygotowaniu technicznej strony podręcznika. Ponieważ po 2 latach od ukazania się pierwszego wydania nakład książki tej wyczerpał się opublikowano drugie wydanie, które zostało uzupełnione, nieznacznie zweryfikowane i poszerzone.

W tym okresie otrzymałam nagrodę indywidualną III^o Rektora Uniwersytetu Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie za wyróżniającą się pracę w roku akademickim 1991/1992. Natomiast w roku 1994 otrzymałam nagrodę zbiorową II^o Rektora Uniwersytetu Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie za wyróżniającą się pracę w roku akademickim 1993/1994.

5.1.1. Wykaz opublikowanych prac

(Wartości IF wg JCR, podano IF 5 letni. Punktację MNiSW podano zgodnie z ujednoliconym wykazem czasopism naukowych w latach 2013-2016; *autor korespondencyjny)

• Prace eksperymentalne

1. ***Tchórzewska D.**, Brukhin V.B., Bednara J. (1996) Plastids and mitochondria compartment in dividing meiocytes of *Psilotum nudum*. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, vol. 65(1-2):91–96.

IF_{5lat}: 1,161; MNiSW: 25 pkt.

2. *Giełwanowska I., Szczuka E., **Tchórzewska D.**, Bednara J. (2003) Microtubular cytoskeleton and organelles during sporogenesis of the homosporous fern *Ophioglossum vulgatum*. **Biologia (Bratislava)**, 58/4:851–860.

IF_{5lat}: 0,803; MNiSW: 20 pkt.

• Podręcznik (dwa wydania)

3. Rodkiewicz B., Śnieżko R., Fyk B., Niewęłowska B., **Tchórzewska D.** Embriologia *Angiospermae* - rozwojowa i eksperymentalna. Wydawnictwo UMCS, Lublin 1994, pp. 1–250.

MNiSW: 20 pkt.

4. Rodkiewicz B., Śnieżko R., Fyk B., Niewęłowska B., **Tchórzewska D.** Embriologia *Angiospermae* - rozwojowa i eksperymentalna. Wydanie drugie poszerzone Wydawnictwo UMCS, Lublin 1996, pp. 1–274.

5.2. Osiągnięcia po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuowałam prace badawcze ukierunkowane na scharakteryzowanie procesów związanych z rozmnażaniem płciowym. W toku realizacji tego

tematu podjęłam badania anatomiczno/cytologiczne komórek dzielących się mejotycznie podczas mikrosporogenezy u *Armoracia rusticana* (chrzan), który należy do rodziny Brassicaceae. Badany *A. rusticana* jest gatunkiem męsko-sterylnym, który nie formuje nasion albo produkuje ich niewielką ilość. Jak dotąd nie analizowano rozwoju męskiego gametofitu u tego gatunku, w związku z tym we współpracy z grupą badawczą pod kierownictwem dr Krystyny Winiarczyk, przeprowadziłam badania morfologiczne, anatomiczne i cytologiczne pylnika i komórek macierzystych pyłku (PMC) oraz powstałych ziaren pyłku. Na podstawie tych badań stwierdziliśmy, że anatomicznie pylnik u *A. rusticana* zbudowany jest prawidłowo, posiada dobrze rozwinięte tapetum komórkowe, podczas mejozy PMC prawidłowo zachodzą procesy: kariokineza, chondriokineza obojętna w telofazie równikowa i cytokineza równoczesna. Tubulinowy cytoszkielet formuje cztery typowe konfiguracje oraz w powstałych ziarnach pyłku występuje typowy korykalny tubulinowy cytoszkielet. Jednakże podczas antezy w pylnikach u badanego gatunku znajdowało się jedynie 10% dwukomórkowych ziaren pyłku, pozostałe mikrospory były jednojądrowe z wyraźnymi objawami degeneracji cytoplazmy. Stwierdzono zatem, że zaburzenia w rozwoju męskiego gametofitu u *A. rusticana* zachodzą na etapie gametogenezy, podczas której w haploidalnych mikrosporach nie dochodzi do podziałów mitotycznych. Rezultaty tych badań zostały opublikowane *Plant Breeding* (Winiarczyk i wsp. 2008).

W związku z tym, że generatywne rozmnażanie u roślin jest wieloetapowym procesem, patologiczne zmiany na jakimkolwiek etapie tego procesu mogą prowadzić do zaburzeń a nawet zaniku zdolności do płciowego rozmnażania. W związku z tym, obranym kierunkiem moich badań było poznanie procesów związanych z formowaniem się gametofitu męskiego u roślin, a badania prowadziłam na poziomie tkanek, komórek czy organelli komórkowych. Zainicjowałam szereg projektów naukowych, początkowo zwracając swoją uwagę na szkielet cytoplazmatyczny i określenie jego roli w komórkach dzielących się mejotycznie u różnych gatunków roślin. Interesującym materiałem badawczym były gatunki z rodziny Malvaceae (*Gossypium arboretum*, *Alcea rosea*, *Lavatera thuringiaca*), które charakteryzują się unikalną chondriokinezą otoczkową. W takim typie chondriokinezy autonomiczne organella komórkowe pod koniec profazy I grupują się wokół jądra i w takiej ograniczonej przestrzeni zachodzi kariokineza. Następnie w telofazie I otoczki organelli formują się wokół dwóch jąder, po czym, w telofazie II wokół czterech jąder. Takie położenie organelli komórkowych utrzymuje się nie tylko do końca mejozy, ale także po jej zakończeniu, gdy jednojądrowe ziarna pyłku mają już uformowaną sporoderbę. Przedstawione powyżej wyniki zostały opublikowane *Annales UMCS Lublin – Polonia* (Tchórzewska i wsp. 2013). Kontynuując prace badawcze na bazie poczynionych obserwacji chondriokinezy, w powiązaniu z danymi dotyczącymi tubulinowego cytoszkieletu u *L. thuringiaca* oraz przy zastosowaniu inhibitorów cytoszkieletu, opisałam rolę zarówno chondriokinezy jak i tubulinowego szkieletu cytoplazmatycznego w dzielących się mejotycznie komórkach podczas mikrosporogenezy u gatunków z rodziny Malvaceae. Stwierdziłam, że charakterystyczne otoczki autonomicznych organelli u badanych gatunków rozdzielają przestrzeń, w obrębie której następuje kariokineza, zastępując nieobecną jeszcze ścianę komórkową. Natomiast badania tubulinowego cytoszkieletu, pokazały, że mikrotubule odpowiedzialne są nie tylko za segregację chromosomów, ale także za charakterystyczne przegrupowania organelli komórkowych podczas mejozy (chondriokinezę). Wniosek ten potwierdziło zastosowanie

kolchicyny, która jest alkaloidem wiążącym się specyficznie z MT powodując zahamowanie ich polimeryzacji. Zniszczenie tubulinowego cytoszkieletu spowodowało nie tylko brak prawidłowej segregacji chromosomów, ale także brak typowego dla chondriokinezy otoczkowej przemieszczania się autonomicznych organelli komórkowych. Można zatem stwierdzić, że mikrotubule są ściśle związane z kariokinezą oraz chondriokinezą podczas mikrosporogenezy u *L. thuringiaca*, a co za tym idzie determinują formowanie funkcjonalnych ziaren pyłku. Wyniki tych badań opublikowano w czasopiśmie *Protoplasma* (Tchórzewska i wsp. 2008). Wniosek ten potwierdziło także zastosowanie kolchicyny w dzielących się mejotycznie komórkach u *P. nudum*. Działanie tego inhibitora spowodowało nie tylko zahamowanie polimeryzacji nowych mikrotubul w mejocytach *P. nudum*, ale także zahamowanie depolimeryzacji już istniejących tubulinowych konfiguracji. Konsekwencją tego były zaburzenia zarówno w przemieszczaniu się chromosomów, jak i organelli w dzielących się komórkach i zasadniczo mejocyty nie kończyły podziału.

Kolejnym krokiem w moich badaniach było opisanie roli aktywnego cytoszkieletu w komórkach dzielących się mejotycznie w procesie formowania męskiego gametofitu u roślin. Zastosowanie cytochalazyny, inhibitora stosowanego w badaniach nad aktywnym cytoszkieletem, pozwoliło rozszerzyć wiedzę na ten temat. Cytochalazyna stanowi wtórny produkt metabolizmu grzybów i jest używana do identyfikacji procesów komórkowych zależnych od aktyny, gdyż powoduje zahamowanie wydłużania, a także rozpad już istniejących MF. Traktowanie cytochalazyną mejocytów *P. nudum* podczas sporogenezy spowodowało całkowitą lub częściową degradację aktywnego cytoszkieletu. Mikrofilamenty w takich komórkach tworzyły jedynie krótkie fragmenty rozproszone w cytoplazmie, często ułożone w sposób nieukierunkowany, nie tworzyły także wrzeciona kariokinetycznego i fragmoplastu. Brak typowych dla dzielącej się mejotycznie komórki konfiguracji mikrofilamentów, prowadził do zaburzenia w przebiegu chondriokinezy, a nawet kariokinezy (np. nie formowała się równikowa płytko chromosomów metafazowych). Konsekwencją tych zmian było zahamowanie podziału mejotycznego i stopniowa degeneracja mejocytów. Rezultaty przedstawionych powyżej badań zostały opublikowane w czasopiśmie *Protoplasma* (Tchórzewska i Bednara 2011).

Na podstawie powyższych badań mogłam zaproponować model biologiczny systematyzujący rolę tubulinowego i aktywnego cytoszkieletu w dzielących się mejotycznie komórkach podczas rozwoju męskiego gametofitu. Jak dotąd uważano, że mikrotubule, formując podczas podziału komórki wrzeciono kariokinetyczne czy cytokinetyczne, odpowiedzialne są jedynie za segregację chromosomów oraz formowanie pomejotycznej ściany komórkowej. Natomiast opisywane przeze mnie konfiguracje mikrotubul wskazują na dodatkową rolę tych struktur w procesie chondriokinezy, niezwykle istotnym dla formowania równocennych, żywotnych i zdolnych do zapłodnienia męskich gametofitów. Natomiast na podstawie badań dotyczących roli aktywnego cytoszkieletu sformułowałam wniosek, że niezależnie od mikrotubul, mikrofilamenty odgrywają bardzo ważną rolę nie tylko w organizacji cytoplazmy, chondriokinezie czy tworzeniu pomejotycznej ściany komórkowej, ale także w kariokinezie. Zatem prawidłowe konfiguracje aktywnego cytoszkieletu, dynamicznie zmieniające się w kolejnych fazach mejozy, na równi z tubulinowym cytoszkieletem, warunkują przebieg procesu formowania żywotnego męskiego gametofitu u roślin.

W wyżej wymienionym okresie w ramach współpracy badawczej z prof. Krystyną Winiarczyk prowadziłam badania embriologiczne roślin ważnych przemysłowo takich jak *Secale cereale* (żyto). Tematem badań były analizy morfologiczne ziaren pyłku oraz proces zapylenia u czterech linii *S. cereale* (linii samozgodnych i samoniezgodnych). Analizy dotyczyły reakcji ziaren pyłku zdeponowanych na samozgodnym lub samoniezgodnym znamieniu słupka. Proces zapylenia oraz jego konsekwencje, czyli kiełkowanie ziaren pyłku na znamieniu słupka, jest kluczowym procesem podczas przemiany pokoleń u roślin. W badanych przez nas liniach *S. cereale* wszystkie rośliny produkują prawidłowo zbudowane, żywotne ziarna pyłku. Jednakże, niezależnie od obfitego zapylenia znamienia słupka samozgodnych roślin, tylko kilka ziaren pyłku tworzy łagiewkę pyłkową. Co ciekawe wokół takiego dojrzałego już pyłku zaobserwowaliśmy resztki tapetum, które nie uległy zużyciu. Bardzo często barierę w rozmnażaniu generatywnym u roślin stanowi brak kiełkowania na znamieniu słupka ziaren pyłku pomimo tego, że są one żywotne. Badania te opublikowano w czasopiśmie *Annales UMCS Lublin – Polonia* (Winiarczyk i Tchórzewska 2013).

Kolejnym tematem badawczym, który realizowałam we współpracy z prof. Krystyną Winiarczyk była analiza niezwykle istotnego w rozwoju ontogenetycznym roślin kwiatowych etapu, jakim jest formowanie kwiatu u *Allium sativum* (czosnek). W badaniach zwróciliśmy uwagę na morfologię i sekwencje rozwojowe kwiatostanu tego gatunku, który jest sterylny i nie tworzy nasion. U czosnku zaobserwowano brak regularnej filotaksji i specyficzną sekwencję tworzenia elementów kwiatostanu, co może świadczyć o zjawisku rewersji, czyli powtórnej zmianie charakteru merystemu z generatywnego w wegetatywny. Wydaje się, że u *A. sativum* rewersja pojawiła się spontanicznie i została utrwalona przez człowieka, na drodze wegetatywnego rozmnażania, ponadto zachodzi ona niezależnie od warunków klimatycznych i jest zjawiskiem powszechnym. Na podstawie analiz została sformułowana teza, że w wyniku rewersji w kwiatostanie *A. sativum* wykształciły się struktury wegetatywne, zwiększające potencjał reprodukcyjny tego gatunku, który „wycofał się” z rozmnażania płciowego. W konsekwencji, można stwierdzić, iż dzięki temu, że czosnek zaangażował do rozmnażania wegetatywnego zarówno podziemne jak i nadziemne organy, znacząco zwiększył swój sukces reprodukcyjny. Badania te opublikowano w czasopiśmie *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* (Winiarczyk i wsp. 2018). Ponadto, zaangażowałam się w prace badawcze wraz z zespołem prof. Krystyny Winiarczyk, w celu analizy procesu formowania się męskiego gametofitu u *Tinantia erecta* w aspekcie cytologicznym. Szczególną uwagę zwrócono na chondriokinezę i cytokinezę u tego gatunku w powiązaniu z tubulinowym szkieletem cytoplazmatycznym oraz rolę autonomicznych organelli w dziedziczeniu cytoplazmatycznym. Współpraca ta zaowocowała publikacjami w czasopiśmie: *Wydawnictwo Naukowe TYGIEL* (Marciniec i Tchórzewska 2016; Marciniec i wsp. 2017).

W ostatnim czasie podjęłam także współpracę z dr. Moniką Szymańską-Chargot z Zakładu Mikrostruktur i Mechaniki Biomateriałów, Instytutu Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN w Lublinie, w zakresie obrazowania komórek roślinnych z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej. Realizowane prace badawcze dotyczyły zmian biochemicznych w ścianie komórek pomidora, a przede wszystkim składu polisacharydów, polifenoli oraz aktywności enzymów pektynolitycznych. W pracach wykorzystano komórki pomidora jako układy modelowe, w celu pokazania zmian biochemicznych w ścianie komórkowej, w czasie rozwoju oraz dojrzewania owocu. Wykonane obrazowanie z

wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej pozwoliło na precyzyjne przedstawienie struktury anatomicznej komórek i zobrazowanie ściany komórkowej wykorzystując techniki immunocytochemiczne. Współpraca ta zaowocowała publikacjami w czasopiśmie *Plant Physiology and Biochemistry* (Chylińska i wsp. 2017).

5.2.1. Wykaz opublikowanych prac

(Wartości IF wg JCR, podano IF 5 letni. Punktację MNiSW podano zgodnie z ujednoliconym wykazem czasopism naukowych w latach 2013-2016; *autor korespondencyjny)

• Prace eksperymentalne

5. *Winiarczyk K., **Tchórzewska D.** and Bednara J. (2007) Development of the male gametophyte of an infertile plant *Armoracia rusticana* Gaertn. **Plant Breeding**, 126:433–439. DOI 10.1111/j.1439-0523.2007.01365.x
IF_{5lat}: 1,595; MNiSW: 25 pkt.
6. ***Tchórzewska D.**, Winiarczyk K., Pietrusiewicz J., Bednara J. (2008) A new type of microtubular cytoskeleton in microsporogenesis of *Lavatera thuringiaca* L. **Protoplasma**, 232:223–231. DOI 10.1007/s00709-007-0281-8
IF_{5lat}: 2,658; MNiSW: 30 pkt.
7. ***Tchórzewska D.**, Bednara J. (2011) The dynamics of the actin cytoskeleton during sporogenesis in *Psilotum nudum* L. **Protoplasma**, 248:289–298. DOI 10.1007/s00709-010-0167-z
IF_{5lat}: 2,658; MNiSW: 30 pkt.
8. *Chylińska M., Szymańska-Chargot M., Deryło K., **Tchórzewska D.**, Zdunek A. (2017) Changing of biochemical parameters and cell wall polysaccharides distribution during physiological development of tomato fruit. **Plant Physiology and Biochemistry**, 119:328–337. DOI 10.1016/j.plaphy.2017.09.010
IF_{5lat}: 3,096; MNiSW: 35 pkt.
9. *Krystyna Winiarczyk, Rafał Marciniak, **Dorota Tchórzewska** (2018) Phenomenon of floral reversion in bolting garlic (*Allium sativum* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 17(2):123–134. DOI: 10.24326/asphc.2018.2.11
IF_{5lat}: 0,550; MNiSW: 20 pkt.

• Inne anglojęzyczne publikacje recenzowane

10. ***Tchórzewska D.**, Pietrusiewicz J., Winiarczyk K. (2013) Organelle aggregations during microsporogenesis with simultaneous cytokinesis in species from the family Malvaceae (*Gossypium arboreum*, *Alcea rosea*, *Lavatera thuringiaca*). *Annales UMCS Lublin-Polonia, Sectio C. Vol. LXVIII*, 2:35–44. DOI 10.2478/v10067-012-0032-x.
MNiSW: 9 pkt.
11. *Winiarczyk K., **Tchórzewska D.** (2013) Pollen grain on the compatible stigma of *Secale cereale* L. *Annales UMCS Lublin-Polonia, Sectio C. Vol. LXVIII*, 2:45–55. DOI: 10.2478/v10067-012-0033-9.
MNiSW: 9 pkt.

• **Rozdział w monografii naukowej wieloautorskiej, w której autorstwo rozdziałów jest oznaczone**

12. ***Tchórzewska D.**, Winiarczyk K., Wiącek J., Krawczyk R. (2016) Lasy Kozłowieckie roślinność wzgórz morenowych, dolin rzecznych i stawów. Str. 101-109. [W:] Czarnecka B. (red.) Na międzyrzeczu Wisły i Bugu. Krajobrazy roślinne i dziedzictwo kulturowe środkowo-wschodniej Polski i zachodniej Ukrainy. Towarzystwo Wydawnictw Naukowych LIBROPOLIS, Lublin. ISBN 978-83-86-292-54-7.

MNiSW: 5 pkt.

13. *Marciniec R., **Tchórzewska D.** (2016) Chondriokineza i cytokineza podczas mikrosporogenezy u Angiospermae. Str. 28–46. [W:] Kropiwić K., Szala M. (red.) Rośliny – przegląd wybranych zagadnień. Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, Lublin. ISBN 978-83-65598-13-4.

MNiSW: 5 pkt.

14. *Marciniec R., **Tchórzewska D.**, Winiarczyk K. (2017) Dziedziczenie cytoplazmatyczne u Angiospermae. Str. 126–137. [W:] Maciąg M., Maciąg K. (red.) Postęp w badaniach nad roślinami – najnowsze doniesienia. Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, Lublin. ISBN 978-83-65598-64-6.

MNiSW: 5 pkt.

5.3. Obecne badania i plany naukowe

Obecnie prowadzę badania we współpracy z dr hab. Haliną Kucharczyk z Zakładu Zoologii Bezkręgowców UMCS. W ramach tej współpracy poddałyśmy szczegółowej morfologiczno-anatomicznej analizie interakcje biologiczne między *Thrips nigropilosus* (wciornastek chryzantemowy) a *Mentha x piperita* (mięta pieprzowa), w kontekście masowego pojawienia się tego szkodnika w unikalnych warunkach klimatycznych, które zaistniały w Polsce w wyniku ocieplenia klimatu. Wyniki tych badań zostały opisane w opracowaniu naukowym, które zostało złożone w czasopiśmie naukowym Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus.

*Halina Kucharczyk, Marek Kucharczyk, Krystyna Winiarczyk, Magdalena Lubiarzand ***Dorota Tchórzewska** (2018) “Effects of temperature on mass development of *Thrips nigropilosus* Uzel (Thysanoptera: Thripidae) on *Mentha x piperita* L. and the impact of the pest on the host plant.” Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus (under review).

Kolejne badania, dotyczące analiz morfologicznej i molekularnej różnorodności dwóch gatunków: *Tinantia anomala* i *T. erecta*, realizuję we współpracy z dr hab. Krystyną Winiarczyk z macierzystego Zakładu. Poniższa praca została złożona do czasopisma Flora i jest w ocenie merytorycznej.

Lidia Błaszczuk, Joanna Gębura, **Dorota Tchórzewska** and *Krystyna Winiarczyk (2018) “Phylogenetic relationships between two species from the *Tinantia* genus (family Commelinaceae) characterized by morphological and molecular approaches.” Flora (under review).

Planuję kontynuować prace badawcze związane z zagadnieniami sterylności u czosnku. W tym nurcie moich działań, zamierzam podjąć współpracę z chińskim ośrodkiem naukowym w celu przeprowadzenia analiz ekotypów czosnku, które występują w ogromnej różnorodności w Chinach, oraz co najważniejsze w celu pozyskania płodnego, dziko

rosnącego czosnku (materiał unikalny w skali światowej), co pozwoli mi na precyzyjny wgląd w zjawisko sterylności u *A. sativum*. Prace badawcze będą realizowane w ramach utworzonego Polsko-Chińskiego Centrum Badawczego "Green Pharmaceuticals" w UMCS. Dzięki nowym programom badawczym w NCN, tj. SHENG 1 polsko-chińskie projekty badawcze, planuję pozyskać finansowanie na planowane działania naukowe.

Z drugiej strony zamierzam także rozwijać unikalne techniki eksperymentalne w oparciu o spektralne analizy autofluorescencji oraz z wykorzystaniem techniki FLIM do obrazowania tkanek i komórek roślinnych, w ramach nowoczesnej infrastruktury badawczej dostępnej w macierzystej Uczelni. Podejście to umożliwi mi doskonalenie warsztatu naukowego i pozwoli na analizy złożonych procesów biologicznych w komórkach roślinnych technikami dotychczas mało wykorzystywanymi w badaniach anatomiczno-embriologicznych roślin.

6. Podsumowanie dorobku naukowego

Opublikowane prace							
Okres	Język	Rodzaj publikacji	Liczba	Wskaźnik IF _{5lat}	Punkty MNiSW	Liczba cytowań (baza Web of Science)	Liczba cytowań bez autocytowań
Przed doktoratem	Polski	Podręcznik (2 wydania)	2	0	20	0	0
	Angielski	Z listy JCR	2	1,964	45	9	3
Po uzyskaniu stopnia doktora	Polski	Monografia (rozdział)	3	0	15	0	0
	Angielski	Główne osiągnięcie naukowe (JCR)	6	14,767	190	9	4
		z listy JCR	5	10,557	140	14	9
		Spoza listy JCR	2	0	18	0	0
Suma			20	27,288	428	32	16
Indeks Hirscha			4				

7. Działalność na rzecz środowiska naukowego

7.1. Działalność dydaktyczna

7.1.1. Zajęcia laboratoryjne

W okresie mojej pracy naukowo-dydaktycznej prowadziłam 10 rodzajów zajęć laboratoryjnych ze studentami biologii, biotechnologii oraz fizyki w zakresie anatomii i embriologii roślin, hodowli *in vitro* oraz zajęć związanych z tematyką biotechnologiczną. Moja działalność w zakresie kształcenia studentów to także opracowanie materiałów dydaktycznych. Współuczestniczyłam w pisaniu podręcznika dla studentów, pt.:

„Embriologia Angiospermae - rozwojowa i eksperymentalna”. Będąc współautorem zebrałam materiały źródłowe i uczestniczyłam w opracowaniu tekstu oraz przygotowaniu technicznej strony tego podręcznika. Podręcznik ten doczekał się także wydania drugiego, w którym uczestniczyłam w uzupełnieniu i weryfikacji tekstu. Ponadto, w ramach zajęć „Anatomia roślin” opracowałam skrypt dla studentów zawierający najważniejsze informacje dotyczące: podstawowych technik laboratoryjnych stosowanych w badaniach cytologicznych, głównych zagadnień dotyczących specyfiki budowy komórki roślinnej, podziału komórek somatycznych, budowy organów roślin. Opracowałam dwa programy nowych przedmiotów: „Metabolizm ligninocelulozy” dla kierunku Biochemia na Wydziale Biologii i Biotechnologii UMCS oraz „Biomateriały” dla kierunku Inżynieria nowoczesnych materiałów na Wydziale Matematyki, Fizyki i Informatyki UMCS. Ponadto, od wielu lat prowadzę ćwiczenia terenowe na kierunku biotechnologia, na których studenci mogą zapoznać się m.in. z unikalnymi stanowiskami rzadkich roślin w okolicy Lublina, na przykład objętego ochroną całkowitą miłka wiosennego (*Adonis vernalis*) oraz ze zjawiskiem sukcesji w środowisku naturalnym, a także ze specyfiką pracy biotechnologa w różnego typu laboratoriach analitycznych. Średnia ocena mojej działalności dydaktycznej w studenckiej ankiecie oceny zajęć wynosi 4,86.

7.1.2. Opieka naukowa

W latach 2000-2016 byłam opiekunem naukowym 10 prac magisterskich oraz promotorem 6 prac licencjackich. Obecnie jestem opiekunem naukowym pracy doktorskiej pt. „Kariokineza, chondriokineza oraz cytokineza w procesie formowania męskiego gametofitu u *Tinantia erecta* (Jacq.) Fenzl.”, którą w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin realizuje pan mgr Rafał Marciniak. Ponadto w latach 2007-2010 oraz 2012-2015 pełniłam obowiązki opiekuna roku I^o kształcenia na kierunku Biologia ogólna i eksperymentalna.

7.2. Działalność recenzencka

Byłam recenzentem 12 publikacji, które były złożone w międzynarodowych czasopismach naukowych (*Protoplasma*, *Sexual Plant Reproduction*, *Annals of Botany*, *Plant Reproduction*, *Biodiversitas*, *Journal of Biological Diversity*, *Journal of Botanical Sciences*, *South African Journal of Botany*) i krajowych czasopismach naukowych (*Tygiel*, *Annales UMCS*).

7.3. Działalność popularyzatorska

7.3.1. Organizacja konferencji naukowych

Byłam członkiem komitetu organizacyjnego dwóch międzynarodowych konferencji naukowych, w których wzięli udział naukowcy ze wszystkich kontynentów, specjalizujący się w zagadnieniach szeroko pojętej embriologii roślin (VII Conference of Plant Embryologists of Czech Republic, Slovakia and Poland, 14-16 September 1995, Lublin; 17th International Congress on Sexual Plant Reproduction, Lublin, Poland, 9-13 July, 2002). Byłam także członkiem komitetu organizacyjnego krajowej konferencji, w której uczestniczyło ponad 500 naukowców z kraju i zagranicy (57 Zjazd Polskiego Towarzystwa Botanicznego „Botanika – tradycja i nowoczesność” Lublin, 27 czerwca - 3 lipca 2016).

7.3.2. Wykłady popularyzujące naukę

Wykład pt.: "Rośliny GMO – szansa czy zagrożenie?", prezentowałam w ramach wykładów otwartych, które odbywały się w Zakładzie Lecznictwem Uzdrawisko Nałęczów, w 17.09.2014 roku. Natomiast w ramach seminarium Polskiego Towarzystwa Botanicznego Oddział Lubelski, wygłosiłam wykład pt.: „*Allium ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) „bezwonny czosnek” alternatywą dla wrażliwych konsumentów” – 24.04.2018 rok.

7.3.3. Promocja i podnoszenie prestiżu Uniwersytetu

W ramach promocji nauki i podnoszenia prestiżu lubelskiego ośrodka uniwersyteckiego w latach 2013-2015 zainicjowałam, zorganizowałam i przeprowadziłam cykl wykładów otwartych pt.: „Edukacja prozdrowotna i promocja zdrowego stylu życia” w Zakładzie Lecznictwem Uzdrawisko Nałęczów. Organizowane przeze mnie wykłady były dedykowane ludziom starszym, przyjeżdżającym z całej Polski do Zakładu Lecznictwem Uzdrawisko Nałęczów. Rozwój e-społeczeństwa, wprowadzanie nowych technologii oraz globalizacja powodują często zjawisko wykluczenia społecznego ludzi starszych, w wieku poprodukcyjnym. Dlatego tak ważne jest, aby dostęp do wiedzy i rozwój jednostki odbywał się przez całe życie. Wykłady, które zorganizowałam prowadzone były przez pracowników naukowych Wydziału Biologii i Biotechnologii oraz Wydziału Pedagogiki i Psychologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Tematem spotkań była wiedza na temat zdrowia w dobie nowoczesnych farmaceutyków i parafarmaceutyków, starzenia się i poprawy jakości życia w dynamicznie zmieniającej się europejskiej społeczności. Organizowane przeze mnie spotkania służyły nie tylko rozwojowi i edukacji osób starszych w wielu aspektach życia, ale także spełniały funkcję integrującą i aktywizującą, co ma ogromne znaczenie dla osób w podeszłym wieku, które nie są aktywne zawodowo. Wykłady cieszyły się dużym zainteresowaniem, gdyż wpisywały się w ideę promowania zdrowego trybu życia i aktywnej starości w polskim społeczeństwie oraz zwiększały ofertę i podnosiły walor nowoczesnego uzdrowiska.

Podejmowane przeze mnie działania promocyjne polegały także na uczestniczeniu w akcji „Dzień roślin”, gdzie prezentowałam projekt pt.: „Rośliny w mikroskali”. W projekcie tym w formie wykładu i pokazów laboratoryjnych prezentowałam możliwości obrazowania tkanek, komórek czy struktur komórkowych roślin w nowoczesnych badaniach laboratoryjnych. Brałam również udział w przygotowaniu i realizacji akcji „Drzwi otwarte” na Wydziale Biologii i Biotechnologii UMCS, gdzie m.in. prezentowałam tematykę badawczą oraz potencjał technologiczny laboratorium biologicznego.

7.4. Udział w projektach infrastrukturalnych

1. „Krajowe Laboratorium Multidyscyplinarne Nanomateriałów Funkcjonalnych” POIG.02.02.00-00-025/09 (2010-2014). Wartość projektu – 54 135 857 zł – wykonawca.

Krajowe Laboratorium Multidyscyplinarne Nanomateriałów Funkcjonalnych to projekt, który miał na celu stworzenie unikalnego w skali krajowej Laboratorium Multidyscyplinarnego Nanomateriałów Funkcjonalnych o strukturze optymalnie wykorzystującej obecną alokację kadr badawczych. Laboratorium umożliwia synergiczny

rozwój inżynierii materiałów funkcjonalnych, przy jednoczesnym skupieniu uwagi na najbardziej aktualnych na świecie tematykach badawczych w zakresie nano-technologii, biotechnologii, nauk biologicznych, medycznych i ochronie środowiska. Większość technik doświadczalnych, które zostały zastosowane w Laboratorium była w Polsce całkowicie niedostępna lub bardzo trudno dostępna. Celem projektu było przełamanie właśnie tej bariery infrastrukturalnej i umożliwienie polskim naukowcom prowadzenia nowatorskich badań w kraju. Konsorcjum skupiło w Polsce grupy badawcze z siedmiu wydziałów i jednostek międzywydziałowych trzech uniwersytetów i sześciu instytutów PAN w dziedzinie fizyki, chemii, biologii i nauk o Ziemi. W zakresie realizacji tego programu konieczna była budowa nowoczesnej wspólnej bazy aparaturowej o znaczeniu środowiskowym, zlokalizowanej w centralnie zarządzanych laboratoriach specjalistycznych, wzorowanej na sprawdzonym modelu europejskim. Laboratoria takie utworzono w Warszawie, Poznaniu i w Lublinie. W ramach w/w Projektu UMCS realizował zadanie dotyczące otwarcia „Środowiskowego Laboratorium Przyżyciowego Obrazowania Komórek”, gdzie głównym sprzętem badawczym jest ‘Automatyczny system do przyżyciowego obrazowania komórek z wyposażeniem’. Jądem systemu jest układ do akwizycji obrazu oparty o mikroskop konfokalny wraz z unikalnym doposażeniem. System ten pozwala na prowadzenie badań licznych procesów komórkowych na poziomie molekularnym w pojedynczej żywej komórce jak i dużej ich grupie, na skale piko-sekund, minut, godzin czy dni. Stworzenie na UMCS „Systemu do przyżyciowego obrazowania komórek” wprowadza nową jakość do badań, przenosząc je na poziom dotychczas nieosiągalny dla polskiego laboratorium. W ramach tego projektu brałam udział w szkoleniach oraz implementowaniu technik obrazowania i analizy komórek roślinnych, wykorzystujących techniki fluorescencyjne, analizy spektralne oraz FLIM. Bezpośredni udział w tym projekcie umożliwił mi sprawne wykorzystanie zaawansowanej mikroskopii konfokalnej do obrazowania komórek roślinnych oraz interpretacji wyników.

2. Regionalny Program Operacyjny Województwa Lubelskiego na lata 2007-2013 – „Modernizacja i wyposażenie obiektów dydaktyczno-badawczych na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi, Matematyki, Fizyki i Informatyki i Chemii UMCS w Lublinie” – udział w realizacji.
3. Program Operacyjny Rozwój Polski Wschodniej 2007-2013 – „Wyposażenie laboratoriów Wydziałów Biologii i Biotechnologii, Matematyki, Fizyki i Informatyki oraz Wydziału Chemii pod kątem badań substancji o aktywności biologicznej i próbek środowiskowych” – udział w realizacji.

Programy "Modernizacja i wyposażenie obiektów dydaktyczno-badawczych na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi, Wydziale Matematyki, Fizyki i Informatyki i Wydziale Chemii UMCS w Lublinie" i „Wyposażenie laboratoriów Wydziałów Biologii i Biotechnologii, Matematyki, Fizyki i Informatyki oraz Wydziału Chemii pod kątem badań substancji o aktywności biologicznej i próbek środowiskowych” to programy typowo infrastrukturalne, które zostały przyznane Uniwersytetowi w celu modernizacji infrastruktury badawczej, dydaktycznej oraz lokalowej. W ramach realizacji tych projektów uczestniczyłam w organizacji nowoczesnego laboratorium do którego zakupiono sprzęt laboratoryjny, w tym: ultramikrotomu Leica EMUC 7, mikroskopu Nikon z przystawką do fluorescencji i z

