



UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Autoreferat

Dr Krystyna Musiał

Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Wydział Biologii i Nauk o Ziemi
Instytut Botaniki
Zakład Cytologii i Embriologii Roślin

Kraków, marzec 2014

1. Imię i Nazwisko: **Krystyna Musiał**

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

1985 – Magister biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

1980–1985 studia magisterskie na kierunku biologia, Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Instytut Botaniki, praca magisterska pod tytułem „Badania embriologiczne gatunku *Solidago canadensis* L. var. *canadensis*”

Promotor: Doc. dr hab. Janina Małecka

Recenzent: Prof. dr hab. Eugenia Pogan

1997 – Doktor nauk biologicznych, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

stopień naukowy uzyskany na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi na podstawie rozprawy doktorskiej pod tytułem „Embriologiczne aspekty zapyleń napromieniowanym pyłkiem u wybranych przedstawicieli Angiospermae”

Promotor: Prof. dr hab. Lesław Przywara

Recenzenci: Prof. dr hab. Romana Czapik, Prof. dr hab. Maciej Zenkteler

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

1 października 1984 – 30 września 1989 pracownik inżynierjno-techniczny w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

1 października 1989 – 31 stycznia 2002 asystent w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

1 lutego 2002 – nadal adiunkt w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

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

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

Procesy rozwojowe w zalążkach amfiktycznie i apomiktycznie rozmnażających się przedstawicieli rodzaju *Rudbeckia* i *Taraxacum* (Asteraceae) w badaniach histochemicznych, ultrastrukturalnych oraz immunocytochemicznych.

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

1. **Musiał K.**, Kościńska-Pająk M., Sliwiska E., Joachimiak A.J. 2012. Developmental events in ovules of the ornamental plant *Rudbeckia bicolor* Nutt. *Flora* 207: 3–9. (IF₂₀₁₂ = 1,716; pkt. wg listy MNiSW = 25)
2. **Musiał K.**, Płachno B.J., Świątek P., Marciniuk J. 2013. Anatomy of ovary and ovule in dandelions (*Taraxacum*, Asteraceae). *Protoplasma* 250: 715–722. (IF₂₀₁₂ = 2,855; pkt. wg listy MNiSW = 25)
3. **Musiał K.**, Górka P., Kościńska-Pająk M., Marciniuk P. 2013. Embryological studies in *Taraxacum udum* Jordan (sect. *Palustria*). *Botany* 91(9): 614–620. (IF₂₀₁₂ = 1,225; pkt. wg listy MNiSW = 25)
- 4 **Musiał K.**, Kościńska-Pająk M. 2013. Egg apparatus in sexual and apomictic species of *Taraxacum*: structural and immunocytochemical aspects of synergid cells. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 55/1: 107–113. (IF₂₀₁₂ = 0,612; pkt. wg listy MNiSW = 20)
5. Płachno B.J., **Musiał K.**, Świątek P., Tuleja M., Marciniuk J., Grabowska-Joachimiak A. 2014. Synergids and filiform apparatus in the sexual and apomictic dandelions from section *Palustria* (*Taraxacum*, Asteraceae). *Protoplasma* 251: 211–217. (IF₂₀₁₂ = 2,855; pkt. wg listy MNiSW = 25)

Sumarycznie: IF = **9,263**; pkt. wg listy MNiSW = **120**;

w czterech publikacjach (w wykazie pozycje 1–4) jestem autorem pierwszym i korespondencyjnym.

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wstęp

Nasienie to rozwijająca się z zalążka struktura, która jest formą przetrwalnikową roślin nasiennych i jednocześnie służy do ich rozprzestrzeniania się. Rozwój nasion jest jednym z podstawowych czynników w hodowli roślin decydującym o wydajności upraw. Dlatego wszechstronne poznanie i zrozumienie mechanizmów warunkujących powstawanie nasienia jest kluczowe dla podniesienia efektywności produkcji roślin użytkowych, zarówno w aspekcie jakościowym jak i ilościowym.

U większości roślin okrytozalążkowych nasiona powstają na drodze płciowej (amfimiktycznej), która obejmuje przejście z fazy diploidalnej do haploidalnej, formowanie gamet, zapłodnienie, rozwój endospermy i zarodka, który jest genetycznie

odmienny od roślin rodzicielskich. Jednakże droga amfimiktyczna nie jest jedynym sposobem rozwoju nasion u Angiospermae, bowiem u niektórych roślin w pełni wartościowe nasiona formują się na drodze aseksualnej. Ta naturalna forma rozmnażania bezpłciowego poprzez nasiona określana jest jako apomiksja lub agamosperma (Nogler 1984). W szlaku rozwojowym roślin apomiktycznych ominięte są procesy płciowe związane z przemianą faz jądrowych, czyli podział redukcyjny i zapłodnienie komórki jajowej, ale zachowana jest przemiana pokoleń sporofit/gametofit, a pokolenia mają ten sam poziom ploidalności (Nogler 1984, Asker i Jerling 1992). Zapoczątkowane w ubiegłym stuleciu intensywne badania cytologiczne i embriologiczne umożliwiły poznanie oraz szczegółowe opisanie różnych procesów apomiktycznych.

Rozmnażanie apomiktyczne może być realizowane na drodze apomiksji gametofitowej lub embrionii przybyszowej, określanej także jako apomiksja sporofitowa (Nogler 1984, Asker i Jerling 1992, Koltunow i Grossniklaus 2003, Bicknell i Koltunow 2004, Tucker i Koltunow 2009, Drews i Koltunow 2011, Barcaccia i Albertini 2013).

W embrionii przybyszowej, która została opisana m.in. u *Mangifera indica*, kilku gatunków *Citrus* i w obrębie rodziny Orchidaceae, spontaniczna embriogeneza inicjowana jest w komórkach somatycznych osłonki lub ośrodka zalążka w bezpośrednim sąsiedztwie rozwijającego się woreczka zalążkowego (Naumova 1992, Koltunow i in. 1995, Teppner 1996, Bicknell i Koltunow 2004). Pomyślny rozwój oraz dojrzewanie zarodków przybyszowych zależne są od zapłodnienia gametofitu żeńskiego i formowania endospermy, która stanowi źródło niezbędnych związków odżywczych oraz substancji wzrostowych. Nasiona powstałe na drodze embrionii przybyszowej często zawierają wiele zarodków, różniących się pochodzeniem i stąd mających odmienne genotypy (zarodki zygotyczne oraz zarodki przybyszowe).

Podstawą apomiksji gametofitowej jest tworzenie niezredukowanego gametofitu żeńskiego, który może rozwijać się na drodze aposporii bądź diplosporii. W przypadku aposporii niezredukowany woreczek zalążkowy rozwija się z somatycznej komórki ośrodka zalążka, która realizuje program rozwojowy właściwy dla megaspori funkcjonalnej. W zalążkach roślin aposporowych zwykle inicjowany jest szlak płciowy poprzez wyróżnicowanie komórki macierzystej megaspor, która wkracza w mejozę. Równocześnie, w pobliżu dzielącej się mejotycznie komórki macierzystej megaspor lub blisko powstałych megaspor, różnicują się aposporowe komórki inicjalne, z których na

drodze podziałów mitotycznych rozwijają się woreczki zalążkowe. Aposporię opisano m.in. u gatunków *Hieracium* z podrodzaju *Pilosella*, u *Hypericum*, *Ranunculus*, u wielu traw z rodzajów *Brachiaria*, *Cenchrus*, *Panicum*, *Paspalum*, *Pennisetum*, *Poa*, *Sorghum* (Barcaccia i Albertini 2013). Wyniki badań u *Hieracium piloselloides* i *H. aurantiacum* ujawniły, że różnice między gatunkami mogą dotyczyć nie tylko liczby powstających inicjałów aposporowych, ale przede wszystkim odnoszą się do czasu ich pojawiania się w trakcie rozwoju zalążka, co może być genetycznie determinowane gatunkowo specyficznymi czynnikami (Koltunow i in. 1998, 2000). U niektórych apomiktów, np. u *Hieracium*, *Pennisetum*, inicjacja aposporii powoduje zakończenie procesu płciowego równoległe zachodzącego w zalążku, ale np. u *Brachiaria* rozwój płciowy jest kontynuowany i w zalążkach funkcjonują zarówno aposporowe jak i mejotyczne woreczki zalążkowe (Tucker i in. 2001, Koltunow i Grossniklaus 2003). Obserwowane w aposporii współistnienie bądź degeneracja komórek płciowych są najprawdopodobniej efektem interakcji na poziomie komórkowym pomiędzy procesem płciowym i apomiktycznym (Tucker i Koltunow 2009).

W diplosporii niezredukowany gametofit żeński rozwija się z wyróżnionej komórki generatywnej (komórka archesporu lub komórka macierzysta megaspor) z pominięciem podziału redukcyjnego lub jego zaburzeniem. Jakkolwiek na podstawie badań embriologicznych wyróżniono siedem typów diplosporii (*Antennaria*, *Taraxacum*, *Ixeris*, *Allium*, *Blumea*, *Elymus*, *Eragrostis*) (Bhat et al. 2005), to proces ten może być rozpatrywany w dwóch ogólnych kategoriach, mianowicie jako diplosporia mitotyczna i diplosporia mejotyczna. W diplosporii mitotycznej komórka macierzysta megaspor bezpośrednio dzieli się mitotycznie, zapoczątkowując rozwój niezredukowanego woreczka zalążkowego, co udokumentowano np. u *Antennaria*, *Tripsacum*. Natomiast w diplosporii mejotycznej, opisanej np. u *Taraxacum*, *Chondrilla*, *Erigeron*, *Ixeris*, w komórce macierzystej megaspor inicjowany jest I podział mejotyczny, jednakże wskutek zaburzenia koniugacji chromosomów homologicznych jego przebieg jest silnie zakłócony i w rezultacie, zamiast dwóch haploidalnych jąder, formuje się jądro restytucyjne. Drugi podział mejotyczny przebiega regularnie i najczęściej prowadzi do powstania dwóch niezredukowanych megaspor, tworzących tzw. diplodiadę. Z chalazalnej megaspor po trzech mitozach rozwija się gametofit żeński. Niekiedy, jak np. u *Ixeris*, drugi podział mejotyczny nie jest połączony z cytokinezą i w rezultacie

powstaje dwujądrowa cenomegaspora, z której po dwóch podziałach mitotycznych formowany jest woreczek zalążkowy.

W apomiksji gametofitowej zarodek rozwija się partenogenetycznie z apomejotycznej (niezredukowanej) komórki jajowej. Rośliny apomiktyczne są najczęściej pseudogamiczne, tzn. że do rozwoju zarodka niezbędne jest zapłodnienie komórki centralnej oraz rozwój endospermy. Jednak u niektórych apomiktów, np. w rodzaju *Alchemilla*, *Chondrilla*, *Taraxacum*, endosperma formuje się autonomicznie bez udziału pyłku. Należy podkreślić, że większość apomiktycznie rozmnażających się roślin to apomikty fakultatywne, które zachowują także zdolność rozmnażania płciowego (Koltunow i Grossniklaus 2003).

W niektórych systemach klasyfikacji apomiksji uwzględniana jest także hemigamia jako forma apomiksji gametofitowej (Nogler 1984). W tym procesie, określanym inaczej jako semigamia, podczas zapłodnienia jądro komórki plemnikowej wnika do komórki jajowej lecz nie dochodzi do jego fuzji z jądrem gamety żeńskiej. Jądra obu gamet dzielą się niezależnie, co prowadzi do formowania chimerycznego zarodka mozaikowego, który zawiera sektory tkanek o odmiennym pochodzeniu, tj. matczym i ojcowskim. Występowanie hemigamii zostało opisane głównie w rodzaju *Rudbeckia* z rodziny Asteraceae, zarówno u pseudogmicznych apomiktów jak i u seksualnie rozmnażających się roślin (Battaglia 1955; Solntzeva 1978, Kościńska 1980). Hemigamię wykorzystuje się obecnie w praktyce, w celu uzyskania roślin haploidalnych bawełny (Turcotte i Feaster 1969).

Apomiksję opisano w ponad 400 rodzajach z około 40 różnych rodzin Angiospermae, reprezentujących zarówno rośliny jedno- i dwuliścienne, ale szczególnie często występuje w obrębie trzech rodzin, tj. Poaceae, Rosaceae i Asteraceae (Asker i Jerling 1992, Drews i Koltunow 2011). Różnorodność procesów apomiktycznych oraz fakt, że apomiksja występuje w obrębie wielu niespokrewnionych rodzin mogą sugerować, że ta forma rozmnażania pojawiła się wielokrotnie w toku ewolucji roślin okrytozalążkowych (Tucker i Koltunow 2009, Rodriguez-Leal i Vielle Calzada 2012). Apomiksja i rozmnażanie amfimiktyczne nie wykluczają się wzajemnie, mogą zachodzić w tej samej roślinie a nawet w tym samym zalążku i należy szczególnie zaznaczyć, że w przypadku wszystkich typów apomiksji zapoczątkowanie procesu płciowego poprzedza proces apomiktyczny (Koltunow i Grossniklaus 2003). To sugeruje, że inicjacja rozmnażania płciowego może być warunkiem wstępnym dla procesów

apomiktycznych a także, że apomiksja może zostać wpisana w podstawowy program seksualnego rozwoju, przejmując kontrolę nad kluczowymi etapami rozmnażania płciowego i tym samym zmieniając jego program genetyczny w kierunku procesów apomiktycznych i wytworzenia nasion o cechach rośliny męskiej (Tucker i Koltunow 2009). Obecnie przyjmuje się, że apomiksja może być rezultatem deregulacji podstawowych mechanizmów rozmnażania seksualnego, w odniesieniu do miejsca i czasu, co prowadzi do zmiany losu komórki, a w efekcie do ominięcia krytycznych etapów rozmnażania płciowego, czyli mejozy i zapłodnienia (Grimanelli i in. 2001, Bicknell i Koltunow 2004, Tucker i Koltunow 2009, Barcaccia i Albertini 2013).

Nasienie powstałe na drodze apomiksji zawiera zarodek genetycznie identyczny z rośliną męską. A zatem w przeciwieństwie do rozmnażania płciowego, podczas którego dochodzi do rozszczepienia cech, rozmnażanie apomiktyczne prowadzi do rozwoju klonalnego potomstwa o genotypie męskim (Bicknell i Koltunow 2004, Tucker i Koltunow 2009, Drews i Koltunow 2011). Z tego względu apomiksja jest niezwykle pożądaną cechą w hodowli roślin i od wielu lat pozostaje w centrum zainteresowania wielu liczących się na świecie ośrodków badawczych, których działalność koncentruje się na badaniach genetycznego podłoża apomiksji oraz na próbach wyjaśnienia molekularnych mechanizmów regulujących ten proces, a także na poznaniu ewolucyjnych aspektów rozmnażania apomiktycznego. Jednakże apomiksja nie występuje u większości ważnych roślin użytkowych, została odnotowana tylko u przedstawicieli rodzaju *Beta*, *Malus*, u tropikalnych i subtropikalnych drzew owocowych z rodzaju *Citrus*, *Mangifera*, *Garcinia* oraz u paszowych traw m.in. z rodzaju *Panicum*, *Pennisetum*, *Brachiaria*, *Dichanthium* (Van Dijk i Van Damme 2000, Bicknell i Koltunow 2004). Wprowadzenie apomiksji do roślin uprawnych umożliwiłoby m.in. utrwalenie efektu heterozji oraz zachowanie w kolejnych generacjach nasion wyselekcjonowanych genotypów, przy jednoczesnym skróceniu czasu cyklu hodowlanego i znaczącym obniżeniu kosztów produkcji wysoko wydajnych nasion mieszańców, możliwe byłoby również uniknięcie szeregu komplikacji związanych z rozmnażaniem płciowym, takich jak np. bariery niezgodności oraz problemów związanych z rozmnażaniem wegetatywnym, jak np. przenoszenie zakażeń wirusowych (Spillane i in. 2001, Tucker i Koltunow 2009, Barcaccia i Albertini 2013). Jednak dotychczasowe próby przeniesienia apomiksji poprzez międzygatunkowe krzyżowanie amfimiktycznie rozmnażających się roślin uprawnych z dzikimi

apomiktycznie rozmnażającymi się gatunkami pokrewnymi, które podjęto odpowiednio u kukurydzy i *Tripsacum dactyloides*, ryżu i *Elymus rectisetus* oraz u prosa i *Pennisetum squamulatum*, nie przyniosły pomyślnych rezultatów (Ozias-Akins i Van Dijk 2007).

Podsumowanie najnowszych doniesień dotyczących wyników badań podłoża genetycznego i mechanizmów molekularnych procesów apomiktycznych przedstawiono w wielu artykułach przeglądowych, które ukazały się w ostatnich latach, np. Tucker i Koltunow 2009, Grimanelli 2012, Rodriguez-Leal i Vielle Calzada 2012, Barcaccia i Albertini 2013. W badaniach podłoża genetycznego apomiksji podstawę stanowią kontrolowane krzyżowania roślin amfimiktycznych i apomiktycznych, w których donorem pyłku jest apomikt, a następnie analiza uzyskanego potomstwa. Pionierskie badania Noglera i Savidana z początku lat 80. ubiegłego wieku dowiodły, że apomiksja jest procesem genetycznie uwarunkowanym, aczkolwiek jej ekspresja może być modyfikowana zarówno czynnikami genetycznymi jak i środowiskowymi (Koltunow i Grossniklaus 2003). Rezultaty dotychczasowych badań wskazują, że poszczególne procesy apomiktyczne są pod kontrolą wielu genów, jednakże wyizolowanie z naturalnych apomiktów genów apomiksji okazało się bardzo skomplikowane, ponieważ u większości gatunków geny te związane są z dużymi fragmentami genomu, w których rekombinacja jest stłumiona (Vijverberg et al. 2010). Aktualnie wiadomo, że u większości badanych apomiktów podstawowe procesy apomiktyczne warunkowane są przez jeden lub dwa dominujące loci, które kontrolują odpowiednio formowanie niezredukowanych komórek jajowych oraz partenogenezę. Wyjaśnienie genetycznej kontroli oraz mechanizmów regulacji apomiksji jest bardziej skomplikowane niż oczekiwano i do pełnego ich zrozumienia niezbędne jest poznanie molekularnych podstaw kluczowych etapów rozmnażania płciowego, zwłaszcza jeśli powszechnie przyjmuje się, że podstawą apomiksji jest zmiana miejsca i czasu ekspresji genów aktywnych podczas rozmnażania seksualnego. Najnowsze badania molekularne seksualnie rozmnażających się roślin modelowych wskazują, że w regulacji megagametogenezy i formowania nasion bardzo istotną rolę odgrywają także mechanizmy epigenetyczne modyfikujące ekspresję genów kontrolujących kluczowe procesy, które odróżniają rozwój seksualny od apomiktycznego (Rodriguez-Leal i Vielle Calzada 2012). Ostatnie doniesienia wskazują, że RNA-zależne zmiany wzoru metylacji DNA, zachodzące podczas procesów płciowych w zalążku, mają zasadnicze

znaczenie dla prawidłowego przebiegu rozmnażania u roślin i mogą być kluczowe dla odróżnienia rozmnażania apomiktycznego i seksualnego (Grimanelli 2012).

Ostatnie doniesienia wskazują także, że procesy prowadzące do formowania nasienia są wyraźnie powiązane z transkrypcyjną aktywnością otaczających tkanek somatycznych zalążka (Ingram 2010, Bencivenga i in. 2011).

Obecnie, mimo zaawansowanych badań na poziomie molekularnym, podkreślane jest także znaczenie analiz cyto-embriologicznych roślin rozmnażających się apomiktycznie, zwłaszcza w aspekcie porównawczym z roślinami rozmnażającymi się amfiktycznie. W ostatnim czasie moje zainteresowania badawcze koncentrują się na zagadnieniach dotyczących biologii rozmnażania wybranych taksonów reprezentujących rodzinę Asteraceae, w której występowanie apomiksji jest szczególnie częste. Najważniejsze wyniki moich badań w tym zakresie zostały zawarte w cyklu pięciu oryginalnych prac naukowych opublikowanych w latach 2012–2014 w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports.

Jednym z obiektów moich zainteresowań badawczych są gatunki z rodzaju *Rudbeckia*, w którym udokumentowano proces hemigamii. Rezultaty moich badań opublikowałam w pracy:

- **Musiał K.**, Kościńska-Pająk M., Sliwiska E., Joachimiak A.J. 2012. Developmental events in ovules of the ornamental plant *Rudbeckia bicolor* Nutt. *Flora* 207: 3–9.

(IF₂₀₁₂ = 1,716; pkt. wg listy MNiSW = 25)

Głównym celem badań było rozstrzygnięcie czy opisana u *R. bicolor* hemigamia jest procesem obligatoryjnym, czy też ograniczona jest do konkretnych populacji. Po raz pierwszy w odniesieniu do rodzaju *Rudbeckia* została przeze mnie zastosowana technika przejaśniania tkanek w salicylanie metylu, umożliwiającą obserwacje zalążni *in toto* w kontraście Nomarskiego i równoczesną szczegółową analizę procesów rozwojowych w zalążkach. Ponadto określenie ploidalności tkanek zarodka i endospermy możliwe było dzięki zastosowaniu cytometrii przepływowej, która dotychczas nie była wykorzystywana do badań nad hemigamią u przedstawicieli *Rudbeckia*. Analiza embriologiczna ujawniła występowanie pewnych procesów dotychczas nie opisywanych u tego gatunku, m.in. poliembrionii, zaburzeń

w embriogenezie i formowaniu endospermy, którym towarzyszyła nadmierna proliferacja komórek endotelium. Z kolei wyniki pomiarów zawartości jądrowego DNA ujawniły, że zarodki i endosperma rozwijały się wskutek normalnego procesu podwójnego zapłodnienia.

Za nowe dla nauki uznaję odkrycie, że hemigamia u *Rudbeckia bicolor* nie występuje obligatoryjnie i może być procesem uzależnionym od genotypu oraz ustalenie po raz pierwszy u tego gatunku średniej wartości 2C DNA.

Największe znaczenie, w świetle badań nad apomiksją podejmowanych w wielu światowych ośrodkach, mają moje wyniki uzyskane w toku badań prowadzonych w obrębie agamicznego rodzaju *Taraxacum*, zwłaszcza, że rodzaj ten jest jednym z modelowych systemów wykorzystywanych w badaniach nad rozmnażaniem apomiktycznym. Pod względem taksonomicznym jest to niezwykle zróżnicowany i bardzo trudny rodzaj, zawierający około 3 tysięcy gatunków zgrupowanych w 55 sekcjach (Záveská Drábková i in. 2009, Mártonfiová i in. 2010). Taksonomiczna różnorodność jest następstwem systemu rozmnażania w obrębie rodzaju, który obejmuje zarówno seksualnie rozmnażające się gatunki diploidalne ($2n=2x=16$) jak i apomiktyczne gatunki poliploidalne (najczęściej triploidy i tetraploidy), u których nasiona formowane są drodze mejotycznej diplosporii, partenogenezy i autonomicznego rozwoju endospermy. Dotychczas w Polsce potwierdzono występowanie 373 gatunków *Taraxacum* z 12 lub 13 (zależnie od ujęć taksonomicznych) sekcji, jednak nadal opisywane są nowe gatunki (Marciniuk i in. 2012a, Marciniuk i in. 2012b). Zarówno światowa jak i polska flora mniszków jest wciąż niewystarczająco poznana. Badania kariologiczne oraz embriologiczne polskiej flory mniszków są fragmentaryczne. Dotychczas tylko nieliczne taksony były obiektem badań embriologicznych i tylko 9% gatunków było analizowanych kariologicznie (Małecka 1965, 1971, 1973; Gacek i in. 2011). Badania cyto-embriologiczne w obrębie polskich populacji mniszków zostały zainicjowane na przełomie lat 60. i 70. ubiegłego wieku w moim macierzystym Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie przez Profesor Janinę Małecką. Obecnie, po wieloletniej przerwie, wznowiliśmy badania, które prowadzimy na różnych poziomach wykorzystując odpowiednie techniki, zależnie od podejmowanych celów badawczych.

Mniszki stanowią dogodny, choć niełatwy obiekt do porównawczych badań struktur i procesów embriologicznych u amfiktycznie i apomiktycznie rozmnażających się roślin. Kluczowe znaczenie dla prowadzonych przeze mnie badań w obrębie rodzaju *Taraxacum* ma dostępność do bogatego a przede wszystkim właściwie oznaczonego materiału roślinnego, co możliwe jest dzięki współpracy z taksonomami.

Kolejne cztery publikacje, wchodzące w skład osiągnięcia będącego przedmiotem niniejszego postępowania, prezentują najistotniejsze rezultaty moich badań w obrębie rodzaju *Taraxacum*.

- **Musiał K.**, Płachno B.J., Świątek P., Marciniuk J. 2013. Anatomy of ovary and ovule in dandelions (*Taraxacum*, Asteraceae). *Protoplasma* 250: 715–722. (IF₂₀₁₂ = 2,855; pkt. wg listy MNiSW = 25)

Badania koncentrowały się na analizie i porównaniu struktury zalążka u seksualnego *T. linearisquameum* i apomiktycznego *T. gentile*. Do wstępnych obserwacji budowy zalążka zastosowano technikę przejaśniania zalążni *in toto* w salicylanie metylu. Na skrawkach półcienkich wykonano reakcje histochemiczne, m.in. reakcję PAS z fuksyną zasadową, pozwalającą na wykrycie i lokalizację nierozpuszczalnych polisacharydów. Głównie jednak badano ultrastrukturę zalążków w transmisyjnym mikroskopie elektronowym.

Uzyskane rezultaty ujawniły m.in. brak istotnych różnic w strukturze zalążków mniszków rozmnażających się seksualnie i apomiktycznie. Wykazano, że zalążki *Taraxacum*, niezależnie od sposobu rozmnażania gatunku, charakteryzują się występowaniem specyficznej integumentalnej tkanki odżywczej, którą tworzą komórki o bardzo silnie zgrubiałych, PAS-pozytywnych ścianach komórkowych. Dotychczasowe badania embriologiczne mniszków koncentrowały się głównie na procesach mikro- i megasporogenezy, formowaniu gametofitu żeńskiego, rozwoju zarodka i endospermy, natomiast analiza budowy zalążka była zwykle pomijana. Wyjątkiem jest praca Coopera i Brinka z 1949 r., którzy w zalążkach *T. officinale* opisywali obecność odżywczej tkanki, sugerując jednak, że jest ona miejscem deponowania białek.

Pragnę podkreślić, że prezentowane w mojej pracy wyniki dotyczące ultrastruktury zalążków *Taraxacum* są pierwszymi w odniesieniu do tego rodzaju i jednocześnie jednymi z nielicznych w obrębie rodziny Asteraceae. Dlatego uważam, że stanowią one

istotne osiągnięcie tej części moich badań, zwłaszcza, że porównawcze badania anatomii zalążka mogą być bardzo przydatne w taksonomicznych i filogenetycznych badaniach w rodzinie Asteraceae.

- **Musiał K.**, Górka P., Kościńska-Pajak M., Marciniuk P. 2013. Embryological studies in *Taraxacum udum* Jordan (sect. *Palustria*). *Botany* 91(9): 614–620. (IF₂₀₁₂ = 1,225; pkt. wg listy MNiSW = 25)

Wbrew powszechnemu przekonaniu, że mniszki są niezwykle pospolitymi roślinami, niektóre gatunki zanikają bowiem działalność człowieka sprawia, że siedliska preferowane przez te taksony ulegają degradacji. Przykładem mogą być mniszki z sekcji *Palustria*, która obejmuje bardzo rzadkie, słabo poznane i zagrożone wyginięciem gatunki *Taraxacum*. A zatem w pełni uzasadnione jest podjęcie badań dotyczących biologii rozmnażania tych zagrożonych taksonów. Ponadto badania embriologiczne dziko rosnących apomiktów są kluczowe dla zrozumienia mechanizmów apomiksji i stanowią podstawę dla dalszych badań w zakresie genetyki populacji.

Celem podjętych przeze mnie badań było kompleksowe opracowanie embriologiczne *T. udum*, taksonu, którego występowanie w Polsce ogranicza się tylko do jednego stanowiska, co więcej, procesy embriologiczne u tego gatunku nie były dotychczas badane. W analizowanym materiale stwierdziłam, że rozmnażanie *T. udum* obejmuje mejotyczną diplosporię typu *Taraxacum*, partenogenezę i autonomiczny rozwój endospermy. Obecność zarodków i endospermy już w zamkniętych kwiatach wskazuje, że *T. udum* jest autonomicznym apomiktem. Chociaż u tego gatunku nasiona formują się całkowicie bez udziału pyłku, to jest on wytwarzany w pylnikach, ale żywotność ziaren pyłku jest znacznie obniżona.

Jednocześnie analizując anatomię zalążka, określiłam na jakim etapie jego rozwoju różnicuje się w integumencie charakterystyczna tkanka odżywcza, otaczająca endotelium. Obecność takiej tkanki obserwowałam u innych wcześniej badanych przeze mnie mniszków. To skłania mnie do twierdzenia, że ta cecha struktury zalążka jest konserwatywna w obrębie całego rodzaju *Taraxacum*. Według mnie badania te są istotne, zwłaszcza w świetle tego, że wielu badaczy podkreśla, że cechy struktury zalążka są bardzo ważne w rozważaniach taksonomicznych. Ponadto obecność

somatycznej tkanki odżywczej otaczającej gametofit żeński może sprzyjać ewolucji apomiksji a także w pewnym sensie może promować autonomiczną apomiksję.

- **Musiał K.**, Kościńska-Pająk M. 2013. Egg apparatus in sexual and apomictic species of *Taraxacum*: structural and immunocytochemical aspects of synergid cells. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 55/1: 107–113.
(IF₂₀₁₂ = 0,612; pkt. wg listy MNiSW = 20)

Główny nurt tej części moich badań stanowiły obserwacje konfiguracji cytoszkieletu tubulinowego w komórkach aparatu jajowego u seksualnego *T. linearisquameum* oraz u autonomicznych apomiktów *T. udum* i *T. alatum*. Zalążki analizowano wstępnie w kontraście Nomarskiego po przejaśnieniu w salicylanie metylu, co umożliwiło m.in. potwierdzenie autonomicznego rozwoju zarodka i endospermy w zamkniętych kwiatach apomiktów, stwierdzenie braku wyraźnych różnic w organizacji gametofitu żeńskiego seksualnych i apomiktycznych mniszków. Pozytywny wynik bardzo czułej reakcji PAS z akryflawiną potwierdził nagromadzenie nierozpuszczalnych polisacharydów w zgrubiałych ścianach komórek somatycznej tkanki odżywczej zalążka wykształconej wokół endotelium, a reakcja z DAPI wskazała, że protoplasty tych komórek stopniowo degenerują, co prawdopodobnie wiąże się z procesem programowanej śmierci komórki. Ponadto wydaje się, że u badanych apomiktów w transporcie substancji odżywczych do woreczka zalążkowego mogą uczestniczyć także synergidy. Przemawia za tym fakt, że w woreczkach zalążkowych z globularnym zarodkiem i endospermą obserwowano długo zachowujące się synergidy bez oznak degeneracji.

Badania histochemiczne ujawniły ponadto obecność aparatu włókienkowego w synergidach zarówno mejotycznych jak i diplosporowych woreczków zalążkowych. Jednakże badania immunocytochemiczne wykazały różnice w konfiguracji cytoszkieletu tubulinowego synergid seksualnego i apomiktycznych gatunków mniszka. Konfiguracja cytoszkieletu synergid *T. linearisquameum* była podobna do opisywanej u innych amfiktycznie rozmnażających się roślin. Natomiast występowanie uboższego cytoszkieletu w komórkach synergid *T. udum* i *T. alatum* może być powiązane z tym, że synergidy autonomicznych apomiktów nie są zaangażowane w przyciąganie oraz recepcję łagiewki pyłkowej, bowiem embriogeneza i formowanie endospermy zachodzą u nich bez udziału pyłku. W pewnym stopniu może to być także oznaką, obserwowanej

u obligatoryjnych apomiktów, ewolucyjnej tendencji do redukcji niepotrzebnych kosztów związanych z rozmnażaniem seksualnym, co może zapewniać tym taksonom większy sukces reprodukcyjny.

Pragnę podkreślić, że organizacja cytoszkieletu w komórkach gametofitu żeńskiego była dotychczas przedmiotem tylko nielicznych badań, które głównie dotyczyły roślin amfimiktycznych. W przypadku apomiktów badania cytoszkieletu w komórkach woreczka zalążkowego prowadzono jedynie u obligatoryjnego autonomicznego apomikta *Chondrilla juncea* (Kościńska i Bednara 2006). A zatem podjęta przeze mnie analiza porównawcza konfiguracji cytoszkieletu tubulinowego w komórkach aparatu jajowego u różniących się sposobem rozmnażania taksonów *Taraxacum* ma charakter pionierski. Za najważniejsze uznaję wykazanie po raz pierwszy różnic w konfiguracji cytoszkieletu tubulinowego synergid pomiędzy amfimiktycznie i apomiktycznie rozmnażającymi się gatunkami mniszków.

- Płachno B.J., Musiał K., Świątek P., Tuleja M., Marciniuk J., Grabowska-Joachimiak A. 2014. Synergids and filiform apparatus in the sexual and apomictic dandelions from section *Palustria* (*Taraxacum*, Asteraceae). *Protoplasma* 251: 211–217. (IF₂₀₁₂ = 2,855; pkt. wg listy MNiSW = 25)

Podjęte obserwacje stanowią kontynuację prowadzonych przeze mnie wcześniej badań dotyczących struktury aparatu jajowego u seksualnych i apomiktycznych mniszków (*T. linearisquameum*, *T. alatum*, *T. udum*). Obiektami tej części badań były kolejne taksony mniszków, seksualnie rozmnażający się *T. tenuifolium* i apomiktyczny *T. brandenburgicum*. Analiza przejaśnionych w salicylanie metylu zalążków wykazała obecność zarodka i endospermy w zamkniętych kwiatach *T. brandenburgicum*, co świadczy, że gatunek ten jest autonomicznym apomiktem, podobnie jak wcześniej badane przeze mnie *T. alatum* i *T. udum*.

Badania ultrastrukturalne nie wykazały istotnych różnic w budowie synergid obu badanych gatunków. Zarówno u *T. tenuifolium* jak i u *T. brandenburgicum* komórki synergid posiadają aparat włókienkowy, podobnie jak wykazałam wcześniej u innych gatunków *Taraxacum* różniących się sposobem rozmnażania. Analiza w mikroskopie elektronowym ujawniła, że aparat włókienkowy w synergidach mniszków ma postać

zgrubiałej ściany o nieregularnym zarysie. Taką postać aparatu włókienkowego opisano także u kilku innych przedstawicieli rodziny Asteraceae, u których badano ultrastrukturę gametofitu żeńskiego. A zatem niniejsze badania ultrastrukturalne potwierdzają słuszność hipotezy, że w obrębie danej rodziny organizacja aparatu włókienkowego jest podobna. W woreczkach zalążkowych *T. brandenburgicum* zawierających globularny zarodek i endospermę, podobnie jak u badanych przeze mnie wcześniej autonomicznych apomiktów *T. alatum* i *T. udum*, obserwowane były długotrwałe synergidy. Potwierdza to zatem moją hipotezę, że u autonomicznych apomiktów synergidy mogą aktywnie uczestniczyć w transporcie związków odżywczych do gametofitu żeńskiego.

Bibliografia

- Asker SE, Jerling L. 1992. Apomixis in Plants. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Barcaccia G, Albertini E. 2013. Apomixis in plant reproduction: a novel perspective on an old dilemma. *Plant Reproduction* 26: 159–179.
- Battaglia E. 1955. Unusual cytological feature in the apomictic *Rudbeckia sullivanii* Boynton et beadle. *Caryologia* 8: 1–32.
- Bencivenga S, Colombo L, Masiero S. 2011. Cross talk between the sporophyte and the megagametophyte during ovule development. *Sexual Plant Reproduction* 24:113–121.
- Bhat V, Dwivedi KK, Khurana JP, Sopry SK. 2005. Apomixis: an enigma with potential applications. *Current Science* 89: 1879–1893.
- Bicknell RA, Koltunow AM. 2004. Understanding apomixis: recent advances and remaining conundrums. *Plant Cell* 16: 228–245.
- Carman JG. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. *Biol. J. Linn. Soc.* 61: 51–94.
- Cooper, D.C., and Brink, R.A. 1949. The endosperm-embryo relationship in an autonomous apomict, *Taraxacum officinale*. *Botanical Gazette* 111: 139–153.
- Drews GN, Koltunow AMG. 2011. The female gametophyte. *The Arabidopsis Book* 9: e0155. doi: 10.1199/tab.0155.
- Gacek P, Góralski G, Joachimiak AJ. 2011. Chromosome numbers and polyploidy in Polish Angiosperms. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 53/2: 37–49.

- Grimanelli D. 2012. Epigenetic regulation of reproductive development and the emergence of apomixis in angiosperms. *Current Opinion in Plant Biology* 15: 57–62.
- Grimanelli D, Leblanc O, Perotti E, Grossniklaus U. 2001. Developmental genetics of gametophytic apomixis. *Trends in Genetics* 17: 597–604.
- Ingram GC. 2010. Family life at close quarters: communication and constraint in angiosperm seed development. *Protoplasma* 247: 195–214.
- Koltunow AM, Soltys K, Nito N, McClure S. 1995. Anther, ovule, seed, and nucellar embryo development in *Citrus sinensis* cv. Valencia. *Canadian Journal of Botany* 73: 1567–1582.
- Koltunow AM, Johnson SD, Bicknell RA. 1998. Sexual and apomictic development in *Hieracium*. *Sexual Plant Reproduction* 11: 213–230.
- Koltunow AM, Johnson SD, Bicknell RA. 2000. Apomixis is not developmentally conserved in related, genetically characterized *Hieracium* plants of varying ploidy. *Sexual Plant Reproduction* 12: 253–266.
- Koltunow AM, Grossniklaus U. 2003. Apomixis: a developmental perspective. *Annual Review of Plant Biology* 54: 547–74.
- Kościńska M. 1980. Embryo and endosperm in *Rudbeckia bicolor* Nutt. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 22: 71–79.
- Kościńska-Pająk M, Bednara J. 2006. Unusual microtubular cytoskeleton of apomictic embryo sac of *Chondrilla juncea* L. *Protoplasma* 227(2–4): 87–93.
- Małecka J. 1965. Embryological studies in *Taraxacum palustre*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 8: 223–235.
- Małecka J. 1971. Cyto-taxonomical and embryological investigations on natural hybrid between *Taraxacum kok-saghyz* Rodin and *T. officinale* Web. and their putative parent species. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 14: 179–197.
- Małecka, J. 1973. Problems of the mode of reproduction in microspecies of *Taraxacum* section *Palustris* Dahlstedt. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 16: 37–84.
- Marciniuk J, Marciniuk P, Gruzewska T, Głowacki Z. 2010a. The genus *Taraxacum* in Poland. General knowledge, collection and determination. Siedlce University of Natural Sciences and Humanities Press, pp. 1–113.
- Marciniuk P, Musiał K, Joachimiak AJ, Marciniuk J, Oklejewicz K, Wolanin M. 2012b. *Taraxacum zajacii* (Asteraceae) a new species from Poland. *Annales Botanici Fennici* 49: 387–390.

- Naumova TN. 1992. Apomixis in angiosperms: nucellar and integumentary embryony. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Nogler GA. 1984. Gametophytic apomixis. W: Johri BM (Ed.) Embryology of angiosperms. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 475–518.
- Ozias-Akins P, Van Dijk P.J. 2007. Mendelian genetics of apomixis in plants. Annual Review of Genetics 41: 509–537.
- Rodriguez-Leal D, Vielle-Calzada J-P. 2012. Regulation of apomixis: learning from sexual experience. Current Opinion in Plant Biology 15: 1–7.
- Solntzeva MP. 1978. Apomixis and hemigamy as one of its forms. Proceedings of the Indian National Science Academy 44: 78–90.
- Spillane C, Steimer A, Grossniklaus U. 2001. Apomixis in agriculture: the quest for clonal seeds. Sexual Plant Reproduction 14: 179–187.
- Teppner H. 1996. Adventitious embryony in *Nigritella* (Orchidaceae). Folia Geobotanica and Phytotaxonomica 31: 323–331.
- Tucker MR, Paech NA, Willemse MTM, Koltunow AMG. 2001. Dynamics of callose deposition and β -1,3-glucanase expression during reproductive events in sexual and apomictic *Hieracium*. Planta 212: 487–98
- Tucker M, Koltunow AMG. 2009. Sexual and asexual (apomictic) seed development in flowering plants: molecular, morphological and evolutionary relationships. Functional Plant Biology 36: 490–504.
- Turcotte EL, Feaster CV. 1969. Semigametic production of haploids in Pima cotton. Crop Science 9: 653–655.
- Van Dijk P, Van Damme J. 2000. Apomixis technology and the paradox of sex. Trends in plant science 5: 81–84.
- Vijverberg K, Milanovic-Ivanovic S, Bakx-Schotman T, van Dijk PJ. 2010. Genetic fine-mapping of DIPLOSPOROUS in *Taraxacum* (dandelion; Asteraceae) indicates a duplicated DIP-gene. BMC Plant Biology 10: 154.
- Záveská Drábková L, Kirschner J, Štěpánek J, Záveský L, Vlček Č. 2009. Analysis of nrDNA polymorphism in closely related diploid sexual, tetraploid sexual and polyploid agamospermous species. Plant Systematic and Evolution 278: 67–85.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).

Oprócz pięciu prac stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego, będącego przedmiotem niniejszego postępowania habilitacyjnego, jestem autorem 13 publikacji naukowych w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (wykaz poz. IIA 1–13), w sześciu z nich jestem pierwszym autorem (wykaz poz. IIA 1, 3–7). Ponadto jestem autorem 8 publikacji naukowych w czasopismach międzynarodowych i krajowych spoza bazy Journal Citation Reports (wykaz poz. IID 1–8), w pięciu spośród nich jestem pierwszym autorem (wykaz poz. IID 2–6). Jestem także współautorem rozdziału w monografii (wykaz poz. IID 9) oraz autorem 28 doniesień konferencyjnych (wykaz poz. IIK 1–11, IIIB 1–17).

Jednym z pierwszych obiektów moich badań naukowych był rodzaj *Solidago* reprezentujący rodzinę Asteraceae. Badania, które prowadziłam w obrębie tego rodzaju dotyczyły analizy procesów rozwojowych w pylnikach i zalążkach *Solidago canadensis* var. *canadensis*, *S. canadensis* var. *scabra*, *S. altissima*, *S. gigantea*, oraz *S. virgaurea* var. *alpestris*. Badania embriologiczne *S. canadensis* var. *canadensis*, będące przedmiotem mojej pracy magisterskiej wykonanej pod kierunkiem Profesor Janiny Małeckiej, stanowiły pierwsze kompleksowe opracowanie tego gatunku. Rezultaty tych badań zostały opublikowane w Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica (wykaz poz. IIA 1), ponadto były prezentowane, wraz z wynikami badań embriologicznych *S. canadensis* var. *scabra*, *S. altissima*, *S. gigantea*, na Konferencji Embriologów Roślin (wykaz poz. IIIB 1) oraz na Międzynarodowym Sympozjum (wykaz poz. IID 1, IIIB 2). Z kolei moje badania nad *S. virgaurea* var. *alpestris* poświęcone były głównie procesowi różnicowania się antypod i tworzenia kompleksu antypodalnego w woreczku zalążkowym. W toku tych badań dokonałam także pierwszego całościowego opracowania biologii rozmnażania tego gatunku. Uzyskane wyniki prezentowane były na międzynarodowej konferencji (wykaz poz. IID 2) oraz zostały opublikowane w Polish Botanical Studies (wykaz poz. IID 3).

W późniejszym okresie moje zainteresowania badawcze koncentrowały się głównie na zagadnieniach związanych z partenogenezą u roślin. Zjawisko partenogenezy prowadzące do powstania haploidów jest bardzo pożądane, jednakże spontaniczna partenogeneza u roślin występuje bardzo rzadko. Rośliny haploidalne stanowią cenny materiał w hodowli roślin i w badaniach genetycznych bowiem umożliwiają uzyskiwanie czystych linii homozygotycznych.

Jedną z eksperymentalnych metod indukcji partenogenezy i rozwoju haploidalnych zarodków może być zapylenie napromieniowanym pyłkiem. Moje badania związane z analizą procesów embriologicznych zachodzących w woreczkach zalążkowych *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* i kilku gatunków *Nicotiana* po eksperymentalnym zapyleniu pyłkiem napromieniowanym wysokimi dawkami promieni gamma, stanowiły tematykę mojej pracy doktorskiej, której promotorem był Profesor Lesław Przywara. Wyniki tych badań opublikowałam w trzech znaczących czasopismach naukowych, *Annals of Botany*, *Sexual Plant Reproduction* i *Acta Botanica Cracoviensia Series Botanica* (wykaz poz. IIA 3–5), a także prezentowałam na krajowych i międzynarodowych konferencjach (wykaz poz. IIK 2, 4; IIIB 3, 4, 6).

Rozwój haploidalnych zarodków może być indukowany także w trakcie kultury *in vitro* organów generatywnych, tj. pylników lub izolowanych mikrospor (indukcja androgenezy) oraz niezapłodnionych zalążni lub zalążków (indukcja gynogenezy).

W 1994 r. w ramach Programu TEMPUS uzyskałam stypendium naukowe w Agricultural University (Department of Plant Cytology and Morphology) w Wageningen (Holandia). W trakcie 3-miesięcznego pobytu w tym zakładzie miałam możliwość uczestniczenia w badaniach związanych z procesem androgenezy w kulturach mikrospor *Brassica napus* cv. Topas. Ponadto miałam możliwość zapoznania się z nowoczesnymi technikami immunocytochemicznymi. Wyniki badań, które prowadziłam w trakcie stypendium, zreferowałam na Ogólnopolskiej Konferencji (wykaz poz. IIK 3).

W 1998 r. podjęłam współpracę z grupą badawczą z Uniwersytetu w Lublanie (Centre for Plant Biotechnology and Breeding), która opracowała technikę kultury *in vitro* niezapłodnionych zalążni i zalążków *Allium cepa* w celu indukowania gynogenezy i uzyskiwania roślin haploidalnych cebuli. Jednakże wydajność procesu gynogenezy zależy w dużym stopniu od stadium rozwojowego eksplantatu, stąd istotne było podjęcie badań embriologicznych, mających na celu ustalenie jakie stadium rozwojowe zalążka jest optymalne dla indukcji gynogenezy i rozwoju haploidalnych roślin, zwłaszcza, że w przypadku cebuli tego typu badania nie były wcześniej podejmowane. Dzięki współpracy z Profesorem Borutem Bohancem miałam dostęp do szerokiego materiału badawczego i podjęłam analizę procesu gynogenezy u cebuli, wykorzystując swoją wiedzę oraz doświadczenie w zakresie badań embriologicznych. Rezultaty tych badań zostały opublikowane w wiodących czasopismach naukowych, *Sexual Plant*

Reproduction i In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant (wykaz poz. IIA 6, 7), były także referowane na krajowych i międzynarodowych konferencjach (wykaz IIK 5; IIIB 5, 8, 9). Realizacja tego tematu była pomocna w przygotowaniu przeze mnie, pierwszej w języku polskim, pracy przeglądowej na temat gynogenezy u roślin (wykaz poz. IID 4). W tym czasie prowadziłam także kultury *in vitro* niezapłodnionych zalążni i zalążków *Helianthus annuus* i analizowałam procesy embriologiczne zachodzące w warunkach *in vitro* w woreczkach zalążkowych tego gatunku. Wyniki uzyskane w toku tych badań zaprezentowałam na międzynarodowej konferencji (wykaz poz. IIIB 7).

W moim dotychczasowym dorobku znaczący jest także udział w badaniach nad *Rumex acetosa*, dwupiennym gatunkiem z systemem chromosomowej determinacji płci, w którego dzikich populacjach obserwuje się przewagę płci żeńskiej. W badaniach, które miały na celu sprawdzenie, czy zachwianie proporcji płci u szczawiu nie wynika z zaburzeń rozwojowych i zwiększonej śmiertelności pyłku determinującego płęć męską, mój udział polegał na przeanalizowaniu toku procesu mikrosporogenezy i formowania gametofitu męskiego. Wyniki badań zostały opublikowane w znaczącym czasopiśmie naukowym Sexual Plant Reproduction (wykaz poz. IIA 8).

Uczestniczyłam także w badaniach mejozy w męskim szlaku płciowym u gatunków rodzaju *Oenothera*, który jest modelowym rodzajem w badaniach chromosomów mejotycznych ponieważ powszechnie występują tu translokacje heterozygotyczne. Wyniki badań dotyczące porównania konfiguracji chromosomów w diakinezie, u różnych linii wiesiołka, były prezentowane na zjeździe Polskiego Towarzystwa Botanicznego (wykaz poz. IIIB 11) oraz zostały opublikowane w czasopiśmie naukowym Genome (wykaz poz. IIA 9).

W toku mojej działalności naukowo-badawczej byłam także zaangażowana w badania procesów embriologicznych w zalążkach i pylnikach roślin rosnących na terenach przemysłowych. Wyniki badań, w których uczestniczyłam były referowane na konferencji naukowej (wykaz poz. IIK 6). Ponadto rezultatem zaangażowania się w tę tematykę jest mój udział w opracowaniu jednego z rozdziałów, w mającej się ukazać niebawem, monografii „Ekotoksykologia: rośliny, gleby, metale” pod redakcją Profesor Małgorzaty Wierzbickiej (wykaz poz. IID 9 wraz z załączonym stosownym zaświadczeniem).

Ostatnio moja działalność naukowo-badawcza koncentruje się na zagadnieniach związanych z biologią rozmnażania w obrębie rodzaju *Rudbeckia* i *Taraxacum*, które reprezentują rodzinę Asteraceae. Najistotniejsze rezultaty badań w tym zakresie zostały zawarte w pracach, które stanowią podstawę osiągnięcia naukowego będącego przedmiotem niniejszego postępowania habilitacyjnego (wykaz poz. IB 1–5). Pozostałe wyniki analizy struktur i procesów embriologicznych badanych przeze mnie gatunków z rodzaju *Rudbeckia* i *Taraxacum* z uwzględnieniem ultrastruktury i technik immunocytochemicznych prezentowałam na licznych konferencjach krajowych i zagranicznych (wykaz poz. IID 5–7, IIK 7–11, IIIB 10, 12–15). Moje gruntowne przygotowanie embriologiczne oraz duża wiedza odnośnie biologii rozmnażania mniszków sprawiły, że zostałam ostatnio zaangażowana w badania *Taraxacum* na poziomie molekularnym. Pierwsze rezultaty tej współpracy zostały już przedstawione na krajowej i międzynarodowych konferencjach (wykaz poz. IID 8, IIIB 16, 17).

Moje badania w obrębie *Taraxacum* dotyczą ponadto analizy kariologicznej występujących w Polsce gatunków mniszków (wykaz poz. IIA 11, 13), w tym nowego dla polskiej flory *T. zajacii* (wykaz poz. IIA 12). W kręgu moich zainteresowań są również zagadnienia związane z męską sterylnością notowaną u niektórych taksonów *Taraxacum*, badania w tym zakresie już rozpoczęłam.

Niezależnie od omówionych powyżej badań, które stanowią główny nurt moich dokonań naukowych, uczestniczyłam także w realizowanym w moim macierzystym zakładzie programie dotyczącym opracowania kariologii flory polskich roślin naczyniowych (wykaz poz. IIA 2). Do swojego dorobku naukowego zaliczam także pracę opublikowaną w *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* (wykaz poz. IIA 10), którą przygotowałam wspólnie ze studentką kierunku biologia. Praca dotyczyła opisanie po raz pierwszy w Polsce występowania wodnej rośliny *Lemna minuta*, przeprowadzona przeze mnie analiza cech anatomicznych liści pozwoliła na jednoznacznie potwierdzenie statusu tego gatunku.



* w przypadku, gdy osiągnięciem tym jest praca/ prace wspólne, należy przedstawić oświadczenia wszystkich jej współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w jej powstanie