

Dr Renata Rucińska-Sobkowiak

Autoreferat

**Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Wydział Biologii
Wydziałowa Pracownia Izotopowa
Poznań 2015**

I. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE

Stopień naukowy magistra w zakresie biologii, specjalność ogólna. Praca magisterska p.t. „Oddziaływanie metali ciężkich na spektrum białek siewek łubinu żółtego” wykonana w Zakładzie Ekofizjologii Roślin Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod kierownictwem prof. dr hab. Edwarda A. Gwoźdźcia, 1991.

Stopień naukowy doktora nauk biologicznych w zakresie biologii.

Praca doktorska p.t. „Powstawanie wolnych rodników nadtlenkowych, a aktywność enzymów antyoksydacyjnych w korzeniach łubinu poddanych działaniu ołowiu.” wykonana w Zakładzie Ekofizjologii Roślin Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod kierownictwem prof. dr hab. Edwarda A. Gwoźdźcia, 1999.

II. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Zakład Ekofizjologii Roślin

- 1) 01.01.1990 – 30.06.1990 – pracownik techniczny na ½ etatu
- 2) 01.10.1990 – 30.11.1993 – pracownik techniczny na pełnym etacie
- 3) 01.12.1993 – 30.09.1998 – słuchacz studium doktoranckiego
- 4) 01.10.1998 – 30.09.1999 – pracownik techniczny na pełnym etacie
- 5) 01.10.1999 – 31.12.2000 – adiunkt

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Laboratorium Izotopowe w Instytucie Biologii Eksperymentalnej

01.01.2001 – 30.09.2004 – adiunkt

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Wydziałowa Pracownia Izotopowa

od 01.10. 2004 – obecnie – adiunkt

III. OSIĄGNIĘCIE WYNIKAJĄCE Z ART. 16 UST. 2 USTAWY 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 ze zm.)

A) Tytuł osiągnięcia naukowego

„Toksyczne działanie jonów ołowiu na struktury komórkowe oraz indukcję mechanizmów obronnych w korzeniach siewek łubinu żółtego”

B) Publikacje wchodzące w zakres osiągnięcia naukowego

1. **Rucińska R.**, Sobkowiak R., Gwóźdź E.A. 2004

Genotoxicity of lead in lupine root cells evaluated by the comet assay.

Cellular and Molecular Biological Letters, 9(3): 519-528, 2004;

(**IF₂₀₀₄ 0,495**; punkty MNiSW 15)

(**liczba cytowań 36** według Web of Science)

Mój udział procentowy szacuję na 80%.

2. **Rucińska R.**, Gwóźdź E.A. 2005

Influence of lead on membrane permeability and lipoxygenase activity in lupine roots.

Biologia Plantarum, 49(4): 617-619,

(**IF₂₀₀₅ 0,792**; punkty MNiSW 25)

(**liczba cytowań 19** według Web of Science)

Mój udział procentowy szacuję na 80%.

3. **Rucińska-Sobkowiak R.**, Pukacki S. 2006

Antioxidative defense system in lupin roots exposed to increasing concentrations of lead.

Acta Physiologiae Plantarum, 28(4): 357-364,

(**IF₂₀₀₆ 0,528**; punkty MNiSW 25)

(**liczba cytowań 16** według Web of Science)

Mój udział procentowy szacuję na 90%.

4. **Rucińska-Sobkowiak R.** 2010

Stres oksydacyjny wywołany działaniem metali ciężkich na rośliny.

Postępy Biochemii 56 (2): 191-200,

(punkty MNiSW 6)

Mój udział procentowy szacuję na 100%.

5. Rucińska-Sobkowiak R. , Nowaczyk G., Krzesłowska M., Rabęda I., Jurga S. 2013

Water status and water diffusion transport in lupine roots exposed to lead.

Environmental and Experimental Botany, 87: 100-109,

(**IF₂₀₁₃ 3,003**; punkty MNiSW 35)

(**liczba cytowań 2** według Web of Science)

Mój udział procentowy szacuję na 70%.

C) Omówienie celu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl czterech oryginalnych artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports oraz praca przeglądowa w języku polskim. Sumaryczny impact factor (zgodny z rokiem opublikowania) tych pozycji wynosi 4,818 (punkty MNiSW 106). We wszystkich artykułach jestem pierwszym autorem. Prezentowany cykl publikacji stanowi wszechstronne, monograficzne opracowanie, w którym zjawiska związane z toksycznym działaniem ołowiu na korzenie łubinu zbadano z wykorzystaniem ponad 20 różnych metod fizycznych, biochemicznych, immunologicznych oraz mikroskopowych. Stopień rozpowszechnienia wyników tych badań wyraża liczba 73 cytowań według bazy Web of Science.

Badania nad toksycznym działaniem jonów ołowiu na struktury komórkowe oraz indukcję mechanizmów obronnych prowadzono na siewkach łubinu żółtego *Lupinus luteus*. Rośliny traktowane były azotanem ołowiu $Pb(NO_3)_2$ o stężeniu jonów Pb^{2+} w zakresie od 50 do 350 $mg\ l^{-1}$ przez 48 godzin w ciemności.

We wcześniejszych doświadczeniach wykazano, że ołów w stężeniu 150 $mg\ l^{-1}$ ograniczał wzrost korzeni o 50 %. Ponad dwukrotnie wyższe stężenie ołowiu (350 $mg\ l^{-1}$) hamowało całkowicie wzrost korzeni, prowadziło do ich pogrubienia i brązowienia świadczącego o nagromadzeniu związków fenolowych (Rucińska i wsp. 1999). Zaburzenia wzrostu skorelowane były z nagromadzeniem jonów ołowiu w tym organie (Rucińska i wsp. 2004, Ryc. 1A) oraz obniżeniem żywotności komórek korzeni (Rucińska i wsp. 2004, Ryc.1B).

Jedną z bezpośrednich przyczyn hamowania wzrostu pod wpływem ołowiu mogą być uszkodzenia DNA. Zastosowanie, elektroforezy pojedynczych jąder komórkowych w żelu agarozowym (tzw. metody kometkowej), pozwoliło na wykazanie, że w obecności ołowiu

dochodzi do fragmentacji DNA (Rucińska i wsp. 2004, Ryc. 2, 3, 4). Genotoksyczny efekt działania metalu był zależny od jego stężenia. W przypadku niższego (150 mg l^{-1}) „ogony” kometek były dłuższe i węższe, co wskazuje na uszkodzenia DNA takie jak pęknięcia jedno- i dwuniciowe, jak również na obecność miejsc alkalicznie labilnych oraz miejsc niekompletnej naprawy DNA. Natomiast przy wyższym stężeniu (350 mg l^{-1}) „ogony” były krótsze i szersze, a DNA zlokalizowane było głównie w pobliżu „głowy” komety (pozostałości jądra komórkowego), co może być wynikiem tworzenia wiązań krzyżowych DNA-DNA i/lub DNA/białko.

Uszkodzenia DNA mogą być powodowane m. in. przez reaktywne formy tlenu (RFT). We wcześniejszych badaniach (Rucińska i wsp. 1999) z zastosowaniem elektronowego rezonansu magnetycznego wykazano, że poziom rodnika chinonowego wzrasta istotnie w korzeniach łubinu traktowanych stężeniem ołowiu 350 mg l^{-1} . Ponadto stwierdzono, że aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD; EC 1.15.1.1), katalizującej reakcję dysproporcjonacji anionorodnika ponadtlenkowy do nadtlenu wodoru, a także peroksydazy (POX; EC 1.11.1.7) redukującej nadtlenek wodoru do wody, rosła wraz ze wzrostem stężenia metalu podawanego korzeniom. Natomiast aktywność katalazy (CAT; EC 1.11.1.6), biorącej udział w dysproporcjonacji nadtlenu wodoru oraz peroksydazy askorbinianowej (APOX; EC 1.11.1.11), redukującej nadtlenek wodoru z wykorzystaniem askorbinianu, malała przy wyższych stężeniach ołowiu. Wyniki te sugerowały, że przy wysokich stężeniach metalu dochodzi do produkcji reaktywnych form tlenu wykraczającej poza potencjał ochronny enzymów antyoksydacyjnych, co w konsekwencji może prowadzić do oksydacyjnych uszkodzeń DNA. Badania poziomu 8-oksoguaniny testem ELISA w korzeniach łubinu (dane niepublikowane) wykazały jedynie nieznaczny wzrost poziomu produktów utleniania kwasów nukleinowych w przypadku wyższego z badanych stężeń. Niejednoznaczny wynik testu może być spowodowany zarówno brakiem reakcji pomiędzy DNA i RFT, a także ograniczeniami metody zastosowanej w badaniach (testy wykorzystane do analiz były przeznaczone i zoptymalizowane do oznaczania stopnia utlenienia DNA w surowicy krwi).

Innym aspektem badań nad indukcją stresu oksydacyjnego przez ołów w korzeniach łubinu było określenie wpływu tego jonu na proces peroksydacji lipidów (Rucińska i Gwóźdź 2005). Ołów jako pierwiastek nie posiadający właściwości oksydoredukcyjnych może indukować proces utleniania lipidów za pośrednictwem lipoksygenazy (LOX; EC 1.13.11.12). Enzym ten katalizuje wbudowanie cząsteczki tlenu w określoną pozycję cząsteczki kwasu tłuszczowego, w wyniku czego powstają nadtlenki kwasów tłuszczowych. Do badań nad

integralnością błon w komórkach wykorzystano dwudniowe siewki łubinu, które hodowano w warunkach hydroponicznych przez 24, 48 72 i 96 godzin w obecności 150 mg l^{-1} ołowiu. Wraz z wydłużeniem czasu ekspozycji na metal obserwowano nieznaczne zmiany w świeżej masy korzeni oraz istotne zwiększenie wycieku jonów potasu (Rucińska i Gwóźdź 2005, Tab. 1.) świadczące o wzroście poziomu uszkodzeń błon w komórkach korzeni. Dłuższe działanie ołowiu zwiększało liczbę izoform lipoksygenazy oraz wpływało na aktywność niemal wszystkich jej izoenzymów (Rucińska i Gwóźdź 2005, Ryc. 1). Pomimo stymulacji aktywności lipoksygenazy nie odnotowano wzrostu poziomu produktów peroksydacji lipidów (Rucińska i Gwóźdź 2005, Tab. 1.), co więcej ich ilość wyraźnie malała. Wynik ten może sugerować, że wzrost aktywności lipoksygenazy prowadzi do powstawania produktów pośrednich, których stężenie nie było mierzone w korzeniach lub że końcowe produkty tego procesu łączą z innymi cząsteczkami np. białkami. Wydaje się prawdopodobne, że tworzenie wiązań krzyżowych pomiędzy produktami peroksydacji lipidów z białkami błonowymi stanowi jedną z przyczyn uszkodzenia błon w komórkach i wycieku elektrolitów obserwowaną u łubinu traktowanego 150 mg l^{-1} ołowiu w warunkach hydroponicznych (Rucińska i Gwóźdź 2005, Tab. 1.). W przypadku młodszych siewek łubinu, ekspozowanych na ołów przez 48 godzin, wzrost poziomu peroksydacji lipidów widoczny był jedynie w zakresie stężeń $50\text{-}150 \text{ mg l}^{-1}$ metalu, a przy wyższych stężeniach $200\text{-}350 \text{ mg l}^{-1}$ obniżał się poniżej poziomu kontroli (Rucińska-Sobkowiak i Pukacki 2006, Ryc. 1.). Warty podkreślenia jest fakt, że przy wyższych stężeniach $150\text{-}300 \text{ mg l}^{-1}$ istotnie wzrastał poziom tokoferolu (witaminy E) i choć jego ilość malała w obecności ołowiu 350 mg l^{-1} to była ona nadal zdecydowanie wyższa niż w kontroli (Rucińska-Sobkowiak i Pukacki 2006, Ryc. 2.). Antyoksydacyjne działanie tokoferoli polega na zmiataniu wtórnych wolnych rodników organicznych oraz terminacji reakcji peroksydacji lipidów. W korzeniach łubinu wysoki poziom tokoferoli przyczyniał się do ochrony lipidów błon w komórkach, co może być potwierdzone przez stosunkowo niewielki wzrost ilości wolnych kwasów tłuszczowych w przypadku niemal wszystkich testowanych stężeń metalu (Rucińska-Sobkowiak i Pukacki 2006, Ryc. 3.). W reakcji tokoferolu z organicznymi rodnikami nadtlenkowymi powstaje rodnik tokoferolowy, który może być regenerowany do tokoferolu m. in. przez kwas askorbinowy (AA). W korzeniach łubinu wzrastała zarówno ilość zredukowanej (AA), jak i utlenionej formy askorbinianu (dehydroaskorbinian, DHA), osiągając swe maksimum przy 150 mg l^{-1} ołowiu (Rucińska-Sobkowiak i Pukacki 2006, Ryc. 4.). Kwas askorbinowy odgrywa z jednej strony ważną rolę jako antyoksydant rozpuszczalny w wodzie, z drugiej substrat dla peroksydazy askorbinowej. We wcześniejszych badaniach na korzeniach łubinu

wykazano, że aktywność tego enzymu jest najwyższa przy stężeniu 100-150 mg^l⁻¹ ołowiu (Rucińska i wsp. 1999) i wynik ten jest pozytywnie skorelowany ze zmianami zawartości askorbinianu i dehydroaskorbinianu (Rucińska-Sobkowiak i Pukacki 2006, Ryc. 4.). Wyższe stężenia ołowiu zmniejszały poziom askorbinianu i dehydroaskorbinianu, natomiast stosunek AA/DHA nie podlegał istotnym zmianom, co może prowadzić do przypuszczenia, że regeneracja askorbinianu zachodzi z równą wydajnością, niezależnie od stężenia metalu. Proces redukcji dehydroaskorbinianu (DHA) do askorbinianu (AA) katalizowany jest przez enzym dehydrogenazę askorbinianową (DHAR; EC 1.8.5.1). W korzeniach łubinu liniowy wzrost aktywności dotyczył tylko I izoformy tego enzymu, natomiast aktywność II rosła przy niskich (50-100 mg^l⁻¹) oraz wysokich (300-350 mg^l⁻¹) stężeniach ołowiu (Rucińska-Sobkowiak i Pukacki 2006, Ryc. 5.). Wysoka aktywność izoformy II w korzeniach była skorelowana z niskim poziomem askorbinianu (Rucińska-Sobkowiak i Pukacki 2006, Ryc. 4 i 5). Z danych literaturowych wynika, że wzrost aktywności DHAR może towarzyszyć zahamowaniu syntezy askorbinianu. Wydaje się, więc że stymulacja aktywności DHAR w korzeniach łubinu pod wpływem niskich i wysokich stężeń ołowiu może być istotna nie tylko dla regeneracji dehydroaskorbinianu, ale również zapobiegać deficytowi askorbinianu w komórkach. Źródłem siły redukującej dla DHAR jest glutation (GSH), którego zredukowana forma odtwarzana jest przez reduktazę glutationową (GR; EC 1.6.4.2). W badanym materiale aktywność tego enzymu była stymulowana przez ołów w stężeniu 50-250 mg^l⁻¹, natomiast przy wyższych stężeniach aktywność zmniejszała się, pozostając jednak istotnie wyższa w stosunku do kontroli (Rucińska-Sobkowiak i Pukacki 2006, Ryc. 6). Można przypuszczać, że hamowanie aktywności GR, podobnie jak innych enzymów zawierających grupy tiolowe, jest związane z bezpośrednią reakcją metalu z tymi grupami, które mają kluczowe znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania centrum reakcji enzymu oraz dla stabilizacji struktury czwartorzędowej jego białka. Osłabienie aktywności GR może być również wynikiem niedoboru glutationu, który w korzeniach traktowanych ołowiem był wykorzystywany do syntezy fitochelatyn - białek odpowiedzialnych za wiązanie metali ciężkich w roślinach (Gwóźdź, Przymusiński, Rucińska i Deckert 1997).

Podsumowaniem prezentowanych badań, dotyczących indukcji stresu oksydacyjnego przez ołów w korzeniach łubinu, jest artykuł przeglądowy Rucińska-Sobkowiak R., 2010. Opracowanie to stanowi również próbę wskazania elementów odrębnych, jak i wspólnych w reakcji roślin na podwyższony poziom reaktywnych form tlenu wywołany działaniem metali ciężkich.

Warunkiem prawidłowego funkcjonowania każdej komórki, w tym możliwości uruchomienia mechanizmów obronnych w reakcji na stres, jest jej prawidłowe uwodnienie. Siewki łubinu stanowiły użyteczny model do badań nad wpływem ołowiu na pobieranie oraz transport dyfuzyjny wody w korzeniach (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013). Rośliny w tak młodej fazie rozwojowej nie posiadały liści, co pozwoliło wykluczyć wpływ transpiracji na transport wody w korzeniach, a uzyskane wyniki odnieść wyłącznie do działania ołowiu na ten organ. Ponadto wyższe ze stężeń ołowiu 350 mg l^{-1} mogło działać nie tylko poprzez toksyczne właściwości metalu, ale również jako związek osmotycznie czynny. Przyjmuje się bowiem, że stres wodny wywoływany jest przez roztwory, w których stężenie soli przekracza 10^{-3} M . Dla azotanu ołowiu wartości 10^{-3} M odpowiada stężenie 331 mg l^{-1} , które jest niższe od subletalnego stężenia (350 mg l^{-1}) wykorzystanego do doświadczeń na łubinie. Wykazano, że względna zawartość wody (z ang. Relative Water Content) w korzeniach traktowanych niższym stężeniem ołowiu (150 mg l^{-1}) wzrastała nieznacznie w stosunku do kontroli, a przy wyższym (350 mg l^{-1}) była do niej porównywalna (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 1A). Wynik ten wskazuje, że obecność ołowiu nie zmniejsza zawartości wody w korzeniach. Obserwacje prowadzone za pomocą transmisyjnego mikroskopu elektronowego nie wykazały, aby komórki merystemów wierzchołkowych korzeni miały widoczne symptomy plazmolizy (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 1 B, C, D). Bezpośrednia obserwacja tych komórek z zastosowaniem optyki Nomarskiego pokazała wzrost stopnia wakuolizacji komórek w przypadku obu stężeń ołowiu, choć efekt ten był lepiej widoczny dla niższego z nich (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 2). Częstość występowania wakuol była skorelowana ze względną zawartością wody w komórkach, co może sugerować, że woda jest magazynowana w tych organellach w odpowiedzi na stres wywołany ołowiem. Tak utworzone zasoby wody mogą minimalizować zmiany objętości cytoplazmy komórek korzeni traktowanych ołowiem, co z kolei zabezpiecza przed gwałtownymi wahaniami stężenia metabolitów w tym przedziale komórkowym.

Uważa się, że prolina jest jedną z substancji kompatybilnych, których obecność pozwala komórkom na obniżenie potencjału osmotycznego wody oraz utrzymanie prawidłowego turgoru w roślinach poddanych działaniu czynników stresowych. Natomiast w badaniach na siewkach łubinu wykazano, że ołów istotnie ograniczał akumulację tego związku w przypadku obu testowanych stężeń (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 3 A). Poziom prolina w korzeniach roślin eksponowanych na działanie metali może być związany z aktywnością enzymów zaangażowanych w jej metabolizm takich jak: syntetaza pirolino-5-karboksylationu, (P5CS; EC 2.7.2.11), aminotransferaza ornitynowa (OAT; EC 2.6.1.13) lub

dehydrogenaza prolinowa (PDH; EC 1.5.1.2). Pierwszy etap syntezy proliny z glutaminianu katalizowany jest syntetazę pirolino-5-karboksyłanu, a z ornityny przez aminotransferazę ornitynową. W korzeniach łubinu traktowanych ołowiem w stężeniu 150 mg l^{-1} , pomimo wzrostu aktywności obu enzymów (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 3 B i C), poziom proliny uległ zmniejszeniu (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 3 A). Niski poziom proliny może być wynikiem degradacji aminokwasu przez dehydrogenazę prolinową, której aktywność rosła przy niższym stężeniu metalu (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 3 D). W obecności wyższego z badanych stężeń ołowiu (350 mg l^{-1}) niska zawartość proliny powiązana była z obniżeniem aktywności syntazy pirolino-5-karboksyłanu oraz aminotransferazy ornitynowej (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 3 B, C), jak również z aktywnością dehydrogenazy prolinowej porównywalną do kontroli (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 3 D). Dane dotyczące dwóch pierwszych enzymów sugerują, że enzymatyczna synteza proliny może być hamowana w obecności jonów ołowiu. Wcześniejsze badania wykazały, że również inne enzymy takie jak: katalaza, peroksydaza askorbinianowa (Rucińska et al. 1999) oraz reduktaza glutationowa (Rucińska i Gwóźdź, 2005) mogą być inaktywowane przez subletalne stężenie ołowiu (350 mg l^{-1}). Niedobór proliny związany z zaburzeniami w jej syntezie wyklucza udział tego aminokwasu w procesie osmoregulacji w korzeniach łubinu traktowanych ołowiem. Zgodnie z prezentowanymi wynikami badań ołów nie wpływał na stopień uwodnienia korzeni, miał jednak istotne znaczenia dla tempa transportu dyfuzyjnego (krótkodystansowego) wody w tym organie (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013). Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego wykazała, że obecność metalu obniżała wartość wolnego (D_s), jak i szybkiego (D_f) współczynnika dyfuzji (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 4). Wynik ten dowodzi, że spowolnienie transportu wody jest spowodowane ograniczeniem możliwości jej przenikania przez błony komórkowe, jak i błony wakuolarnie, włączając w to wewnątrzkomórkowy system endoplazmatyczny (D_s) oraz że jest związane z hamowaniem jej ruchu w apoplazmie (D_f). Ponadto współczynnik (D_s) został wykorzystany do wyznaczenia średnic przestrzeni ograniczających ruch dyfuzyjny cząsteczek wody (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 5A) oraz przepuszczalności barier ograniczających proces dyfuzji (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 5B), które opisują odpowiednio stopień heterogenności próby biologicznej oraz stopień przepuszczalności całego systemu. Wzrost średnic przestrzeni ograniczających pokazuje, że w obrębie symplastu zmniejsza się ilość oraz zmienia się jakość porów, przez które możliwy jest ruch wody i to w taki sposób, że powstają w niej dodatkowe bariery dla ruchu dyfuzyjnego. W przypadku korzeni łubinu bardziej prawdopodobne wydaje się

blokowanie akwaporyn niż ograniczenie ruchu wody związane ze zmianami właściwości dwuwarstwy lipidowej, która jak wcześniej wykazano (Rucińska-Sobkowiak i Pukacki, 2006) stabilizowana jest przez tokoferol. Redukcja transportu wody przez system wakuolarny może wynikać z zerwania połączeń między protoplastami poprzez plazmodesmy lub ze zmian w ich budowie. Światło plazmodesm może być zmniejszane (odwracalnie) przez odkładanie wokół nich kalozy w ścianach komórkowych. Obecność kalozy w ścianach komórek korzeni łubinu traktowanych ołowiem (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 6D i F) może sugerować, że wewnątrzkomórkowy transport wody przez plazmodesmy ulega spowolnieniu, co sprzyja deponowaniu wody w wakuolach (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 2). Ponadto odkładanie kalozy w ścianach komórkowych oraz ich grubienie zmniejsza przepuszczalność apoplastu dla ruchu wody (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 4). Obrazy z mikroskopu konfokalnego pokazały, że kaloza tworzy ziarniste skupiska (Rucińska-Sobkowiak i wsp. 2013, Ryc. 6 C i E) w komórkach parenchymy kory pierwotnej, które są zlokalizowane wokół walca osiowego. Zastosowanie przeciwciał sprzężonych ze złotem koloidowymi pozwoliło wykazać obecność kalozy w ścianach komórkowych oraz bezpośrednim ich sąsiedztwie. Odkładanie hydrofobowych polisacharydów może odpowiadać za inhibicję dyfuzyjnego ruchu wody zarówno w symaplaście, jak i w apoplaście tkanek otaczających wiązki przewodzące korzeni. Dyfuzja jest procesem odgrywającym kluczową rolę w kontroli ruchu wody oraz substancji w niej rozpuszczonych do naczyń przewodzących oraz w kierunku przeciwnym. Ruch ten odbywa się poprzez tkanki otaczające wiązki przewodzące i może wpływać na odległy transport wody do nadziemnych części roślin. Wydaje się, że obniżenie zawartości wody w liściach roślin traktowanych ołowiem oraz wystąpienie innych symptomów dehydratacji, opisane dla różnych gatunków, może być nie tylko konsekwencją szkodliwego wpływu ołowiu na wzrost systemu korzeniowego oraz poziom transpiracji, ale może być również skutkiem osłabienia dyfuzyjnego ruchu wody wewnątrz korzeni.

IV. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO - BADAWCZYCH (ARTYSTYCZNYCH).

A) Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC) – 11 publikacji

1. Udział, jako wykonawcy, w 6 projektach finansowanych przez Komitet Badań Naukowych oraz Narodowe Centrum Nauki, pozwolił mi na prowadzenie badań dotyczących wybranych

aspektów toksycznego działania ołowiu na siewki łubinu, opisanych w osiągnięciu habilitacyjnym oraz opublikowanych w pracach odnoszących się do syntezy fitochelatyn oraz indukcji stresu oksydacyjnego w korzeniach łubinu pod wpływem jonów ołowiu, kadmu i miedzi $Pb(NO_3)_2$, $Cd(NO_3)_2$ i $Cu(NO_3)_2$:

Gwóźdź E.A., Przymusiński R., **Rucińska R.**, Deckert J. 1997

Plant cell responses to heavy metals: Molecular and physiological aspects.

Acta Physiologiae Planarum 19(4): 37-42,

(IF₁₉₉₇ **0,444**; punkty MNiSW 25)

(liczba cytowań **37** według Web of Science)

Rucińska R., Waplak S., Gwóźdź E.A. 1999

Free radical formation and activity of antioxidant enzymes in lupin roots exposed to lead.

Plant Physiology and Biochemistry 37(3): 187-194,

(IF₁₉₉₉ **1,347**; punkty MNiSW 35)

(liczba cytowań **80** według Web of Science)

2. Współpraca m. in. w ramach w/w projektów umożliwiła mi również udział w badaniach nad oddziaływaniem różnych czynników stresowych, głównie abiotycznych, na rośliny uprawne. Badania te koncentrowały się na:

a) zidentyfikowaniu peptydu o masie cząsteczkowej 16 kDa jako podjednostki cytozolowej formy Cu,Zn- dysmutazy ponadtlenkowej oraz określeniu zmian w aktywności tego enzymu w odpowiedzi na działanie jonów ołowiu i miedzi [$Pb(NO_3)_2$, $Cu(NO_3)_2$], chlorku sodu (NaCl), jonów siarczanowych ($Na_2S_2O_5$) i azotynowych ($NaNO_2$) w korzeniach łubinu,

Przymusiński R., **Rucińska R.**, Gwóźdź E.A. 1995

The stress-stimulated 16 kDa polypeptide from lupin roots has properties of cytosolic Cu,Zn-superoxide dismutase.

Environmental and Experimental Botany 35(4): 485-495,

(IF₁₉₉₅ **0,991**; punkty MNiSW 35)

(liczba cytowań **26** według Web of Science)

b) określeniu zależności pomiędzy wzrostem komórek w kulturze zawiesinowej soi, a zmianami we wzorach izoenzymatycznych dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, peroksydazy i peroksydazy askorbinianowej w reakcji na działanie jonów kadmu (CdCl_2),

Sobkowiak R., Rymer K., **Rucińska R.**, Deckert J. 2004

Cadmium-induced changes in antioxidant enzymes in suspension culture of soybean cells.

Acta Biochimica Polonica 51(1): 219-222,

(**IF₂₀₀₄ 1,032**; punkty MNiSW 15)

(**liczba cytowań 39** według Web of Science)

c) wykazaniu zmian w akumulacji białka o masie cząsteczkowej 16 kDa (zidentyfikowanego wcześniej w korzeniach łubinu jako białko związane z patogenezą, PR-10) w reakcji na działanie metali ciężkich: (PbCl_2 , CdCl_2 , CuCl_2 , ZnCl_2), stresu solnego (NaCl), osmotycznego (sorbitol) oraz desykcję, a także w odpowiedzi na obecność cząsteczek sygnałowych: kwasu salicylowego (SA), nadtlenku wodoru (H_2O_2) oraz etylenu (ET),

Przymusiński R., **Rucińska R.**, Gwóźdź E.A. 2004

Increased accumulation of pathogenesis-related proteins in response of lupine cells to various abiotic stresses.

Environmental and Experimental Botany 52: 53-61,

(**IF₂₀₀₄ 1,653**; punkty MNiSW 35)

(**liczba cytowań 38** według Web of Science)

d) oragnospecyficznej lokalizacji nadtlenku wodoru (H_2O_2) oraz peroksydazy w siewkach łubinu traktowanych ołowiem [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$],

Przymusiński R., **Rucińska-Sobkowiak R.**, Iliska B., Gwóźdź E.A. 2007

Organospecific responses of lupin seedlings to lead. Localization of hydrogen peroxide and peroxidase activity.

Acta Physiologiae Plantarum 29(4): 411-416,

(**IF₂₀₀₇ 0,295**; punkty MNiSW 25)

(**liczba cytowań 10** według Web of Science)

e) wskazaniu potencjalnej roli wybranych enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej i peroksydazy jako biochemicznych markerów działania ozonu troposferycznego,

Borowiak K., **Rucińska-Sobkowiak R.**, Rymer K., Gwóźdź E.A., Zbierska J. 2009

Biochemical markers of tropospheric ozone: experimentation with test-plants.

Polish Journal of Ecology 57(1): 3-14,

(**IF₂₀₀₉ 0.384**; punkty MNiSW 15)

(**liczba cytowań 6** według Web of Science)

f) określeniu roli tlenku azotu (NO) w indukcji programowanej śmierci komórki (PCD) w korzeniach łubinu eksponowanych na działanie jonów kadmu (CdCl_2) oraz wyjaśnieniu związku pomiędzy symptomami PCD w korzeniach, a wzrostem poziomu cząsteczek sygnałowych: tlenku azotu (NO), nadtlenku wodoru (H_2O_2) i kwasu salicylowego SA w liściach,

Arasimowicz-Jelonek M., Floryszak-Wieczorek J., Deckert J., **Rucińska-Sobkowiak R.**, Gzyl J., Pawlak-Sprada S., Abramowski D., Jelonek T., Gwóźdź E. A., 2012,

Nitric oxide implication in cadmium induced programmed cell death in roots and signaling response of yellow lupine plants.

Plant Physiology and Biochemistry 58: 124-134,

(**IF₂₀₁₂ 2.775**; punkty MNiSW 35)

(**liczba cytowań 26** według Web of Science)

g) wykazaniu zmian na poziomie ultrastrukturalnym w osiach zarodkowych łubinu poddanych działaniu stresu solnego (NaCl), w tym fragmentacji jądrowego DNA, która wskazuje, że stres solny prowadzi do indukcji programowanej śmierci komórki (PCD) w tych organach,

Wojtyła L., **Rucińska-Sobkowiak R.**, Kubala Sz., Garnczarska M., 2013

Lupine embryo axes under salinity stress. Ultrastructural response.

Acta Physiologiae Plantarum. 35 (7):22119-2228,

(**IF₂₀₁₃ 1,305**; punkty MNiSW 25)

(**liczba cytowań 2** według Web of Science)

h) określeniu roli cząsteczek sygnałowych: kwasu jasionowego (JA), etylenu (ET), kwasu salicylowego (SA) oraz tlenku azotu (NO) w reakcji siewek grochu na infekcję mszycami, a także pomiarze aktywności enzymów zaangażowanych w syntezę wymienionych cząsteczek sygnałowych takich jak: liaza fenyloalaninowa (PAL) oraz hydrolaza kwasu benzoowego (BA2H) uczestniczących w syntezie kwasu salicylowego (SA) oraz lipoksygenaza (LOX) biorącej udział w syntezie kwasu jasionowego (JA),

Mai V. Ch., Drzewiecka K., Jeleń H., Narożna D., **Rucińska-Sobkowiak R.**, Kęsy J., Floryszak-Wieczorek J., Gabryś B., Morkunas I. 2014

Differential induction of *Pisum sativum* defense signaling molecules in response to pea aphid infestation.

Plant Science 221–222 : 1–12, 2014,

(**IF₂₀₁₄ 4,114**, punkty MNiSW 35)

(**liczba cytowań 3** według Web of Science)

i) przedstawieniu najnowszego stanu wiedzy na temat roli reaktywnych form tlenu (RFT), tlenku azotu (NO), hormonów oraz regulacji ekspresji genów w reakcji roślin na działanie kadmu (praca przeglądowa),

Chmielowska-Bąk J., Gzyl J., **Rucińska-Sobkowiak R.**, Arasimowicz-Jelonek M., Deckert J.,

The new insights into cadmium sensing.

Frontiers in Plant Science 5: 1-13, 2014,

(**IF₂₀₁₄ 3,637**; punkty MNiSW 40)

(**liczba cytowań 8** według Web of Science)

B) Monografie, publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie, o której mowa w pkt II A - 2 publikacje

Doświadczenia dydaktyczne oraz metodyczne, związane prowadzeniem badań naukowych, zostały wykorzystane w przygotowaniu dwóch prac, których jestem współautorem:

1. Chmiel J., Jackowiak B., Jakubowicz M., Kmita H., Przymusiński R., Rachowiak P., **Rucińska R.**, Tomaszewska B. 2004
Pytania testowe z biologii. Materiały pomocnicze dla kandydatów na kierunki: biologia, biotechnologia i bioinformatyka; pod redakcją G. Rosińskiego
Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań
2. Praca zbiorowa pod redakcją E. A. Gwoździa i **R. Rucińskiej-Sobkowiak** 2013
Ćwiczenia z ekofizjologii roślin.
Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań,

C) Udział w krajowych projektach badawczych

1. grant KBN nr 4 1575 91 01 p.t. „Oddziaływanie czynników stresowych i toksycznych na strukturę i metabolizm komórek roślinnych” 27.11.1991-30.09.1994 – **wykonawca**
2. grant KBN nr 6PO4B 003 08 p.t. „Białka stresowe komórek roślinnych: charakterystyka, lokalizacja komórkowa i poziom regulacji biosyntezy” 15.01.1995-14.01.1998 – **wykonawca**
3. grant KBN nr 3PO6A 018 23 p.t. „Komórkowa i organospecyficzna reakcja niektórych roślin uprawnych na abiotyczne czynniki stresowe” 1.07.2002-30.06.2005 – **główny wykonawca**
4. Międzyuczelniany projekt badawczy (Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu oraz Akademia Rolnicza w Poznaniu) nr 10/68WI/04 p.t. „Poszukiwanie biomarkerów stresu oksydacyjnego wywołanego ozonem troposferycznym.” 01.09.2004-31.07.2005 – **główny wykonawca**
5. grant KBN nr N N303 3036 34 p.t.: „Rola tlenu azotu (NO) w indukowanej kadmem śmierci korzeni roślin uprawnych” 28.05.2008 – 27.05.2011 – **wykonawca**
6. grant NCN nr 2011/01/B/NZ9/00074 p. t. „Udział molekuł sygnałowych w odpowiedzi obronnej *Pisum sativum* na żerowanie *Acyrtosiphon pisum*” 12.12.2011-11.12.2014 - **wykonawca**

D) Nagrody za działalność naukową:

1. Nagroda zespołowa I stopnia przyznana przez Rektora Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu za osiągnięcia w pracy naukowej 03.09.2000.
2. Nagroda zespołowa III stopnia przyznana przez Rektora Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu za osiągnięcia w pracy naukowej 09.11.2007.
3. Nagroda zespołowa III stopnia przyznana przez Rektora Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu za osiągnięcia w pracy naukowej 20.09.2013.

PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO:

Komunikaty na konferencjach naukowych: międzynarodowych (23) i krajowych (15)

– **38 komunikatów**

Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports

– **15 publikacji**

Monografie, publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie, o której mowa w pkt II A

- **3 publikacje**

Sumaryczny impact factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania - **22.795**

Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS) – - **348 (bez autocytowań 325)**

Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS) - **10**

Sumaryczna liczba punktów MNiSW: **426**

V. OSIAGNIĘCIA DYDAKTYCZNE***A) Opracowanie nowych ćwiczeń włączonych do programu edukacyjnego dla studentów Wydziału Biologii im. Adama Mickiewicza w Poznaniu***

Przygotowane przeze mnie ćwiczenia zostały zamieszczone w skrypcie „Ćwiczenia z ekofizjologii roślin” pod redakcją E. A. Gwoździa i R. Rucińskiej-Sobkowiak (2013) w rozdziałach: Indukcja stresu oksydacyjnego w roślinach i wykrywanie reaktywnych form tlenu (ćwiczenia 26, 27, 28, 29, 30 i 31) oraz Oddziaływanie metali ciężkich na rośliny (ćwiczenie 25). Skrypt ten kierowany dla studentów biologii, biotechnologii, ekologii i ochrony środowiska oraz dla kierunków i specjalności związanych z szeroko rozumianą ochroną środowiska przyrodniczego. Skrypt obejmuje ćwiczenia laboratoryjne związane z reakcją roślin na różne abiotyczne i biotyczne czynniki stresowe takie jak niedobór wody i tlenu, metale ciężkie, wysokie i niskie temperatury, kwaśne deszcze, allelopatia i patogeny grzybowe.

B) Ćwiczenia dla studentów Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Prowadziłem ćwiczenia laboratoryjne z 7 przedmiotów z zakresu fizjologii roślin, biochemii, biologii molekularnej i immunologii. Ponadto byłem współorganizatorem ćwiczeń (sesji terenowej w ramach przedmiotu „Ekofizjologia roślin”) przygotowanych we współpracy z Instytutem Dendrologii Polskiej Akademii Nauk w Kórniku. Prowadziłam konwersatoria z przedmiotu „Molekularne mechanizmy reakcji roślin na stres” dla studentów biotechnologii.

C) Opieka naukowa nad studentami

1. Egzaminator Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu na kierunku biologia i biotechnologia w latach: 2001-2002, 2002-2003, 2003-2004.
2. Kierownik 4 prac licencjackich.
3. Opiekun 6 prac magisterskich.
4. Kierownik 6 prac magisterskich.

D) Nagroda za działalność dydaktyczną:

Nagroda zespołowa III stopnia przyznana przez Rektora Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu za osiągnięcia w pracy dydaktycznej 23.09.2014.

VI. INNE

Odrębny obszar podnoszenia moich kwalifikacji zawodowych związany jest z pełnieniem na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu funkcji inspektora ochrony radiologicznej (od 1991), kierownika Laboratorium Izotopowe w Instytucie Biologii Eksperymentalnej (2001-2004) oraz kierownika Wydziałowej Pracowni Izotopowej (od 2004). W latach 1991, 1997, 2002, 2007, 2013 brałam udział w kursach z zakresu ochrony radiologicznej i po zdaniu egzaminów kwalifikacyjnych otrzymałam uprawnienia nadawane przez Państwowy Dozór Bezpieczeństwa Jądrowego i Ochrony Radiologicznej oraz Prezesa Państwowej Agencji Atomistyki (PAA). Przygotowałam program szkolenia wewnętrznego pracowników w zakresie ochrony radiologicznej „Zasady pracy ze źródłami promieniotwórczymi”, zatwierdzony 15.04.2002 r. przez Prezesa PAA. W wykładach i szkoleniach wzięło do tej pory udział 90 pracowników, doktorantów i studentów Wydziału Biologii rozpoczynających prowadzenie doświadczeń z zastosowaniem

substancji promieniotwórczych. W oparciu o posiadaną wiedzę przygotowałam wykład monograficzny dla studentów I i II roku studiów II stopnia: kierunek biologia, biotechnologia oraz ochrona środowiska „Radioaktywność - korzyści i zagrożenia”. Wygłosiłam również dwa wykłady popularno-naukowe podczas Nocy Biologów (2015 r.) i Festiwalu Nauki i Sztuki (2015 r.):

„Radioaktywność – jak ją wykorzystujemy i kiedy się przed nią chronimy”

„Promieniowanie jonizujące na co dzień”.

Nagroda za działalność organizacyjną:

Nagroda przyznana przez Dziekana Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu za pracę dla dobra Wydziału w roku akademickim 2003/2004 - 24.09.2004.

11.12.2015 Renata Rucińska-Sobkowiak