

AUTOREFERAT

dr Dawid Perlikowski

Zakład Fizjologii Roślin

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Poznań, 2026

1. Imię i nazwisko.

Dawid Perlikowski

<https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0001-5532-5118>

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- **Stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie agronomia, 14 grudnia 2016 r.**, Instytut Genetyki Roślin, Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu.

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Fizjologiczne i molekularne podstawy tolerancji deficytu wody u form introgresywnych życicy wielokwiatowej (*Lolium multiflorum* Lam.) i kostrzewy trzcinowej (*Festuca arundinacea* Schreb.)”.

Promotor: dr hab. Arkadiusz Kosmala

- **Tytuł magistra biologii, 21 lipca 2011 r.**, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii.

Tytuł pracy magisterskiej: „Charakterystyka wybranych kompleksów kinaz MAP u *Arabidopsis thaliana*”.

Promotor: prof. dr hab. Jan Sadowski

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

2019 – obecnie stanowisko **adiunkta**, Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Genetyki Roślin, Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu,

2017 – 2019 stanowisko **asystenta**, Zakład Biologii Stresów Środowiskowych, Zespół Fizjologii Molekularnej i Cytogenetyki Roślin, Instytut Genetyki Roślin, Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu,

2016 – 2017 stanowisko **specjalisty biologa**, Zakład Biologii Stresów Środowiskowych, Zespół Fizjologii Molekularnej i Cytogenetyki Roślin, Instytut Genetyki Roślin, Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu.

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.

4.1. Tytuł głównego osiągnięcia naukowego

„Poznanie mechanizmów tolerancji suszy u wybranych gatunków i mieszańców traw kompleksu *Lolium-Festuca*”.

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl sześciu artykułów naukowych opublikowanych w latach 2019 – 2025.

4.2. Publikacje wchodzące w skład głównego osiągnięcia naukowego.

H1. Perlikowski D.*, Augustyniak A., Masajada K., Skiryicz A., Soja A. M., Michaelis Ä., Wolter G., Kosmala A. (2019). Structural and metabolic alterations in root systems under limited water conditions in forage grasses of *Lolium-Festuca* complex. *Plant Science* 283: 211-223. DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.02.001.

IF₂₀₁₉ = 3,591 / IF_{5-Year} = 4,253 / MNiSW = 100 / Cyt: 30

Mój wkład w przygotowanie publikacji obejmował: (1) opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie układu eksperymentalnego pracy, postawienie hipotez badawczych i wyznaczenie głównych celów badań, (2) udział w przeprowadzeniu eksperymentu symulowanych warunków deficytu wody, (3) udział w pomiarach oraz analizie zmian morfologicznych pędów oraz korzeni, (4) pomiary fizjologiczne wycieku elektrolitów, zawartości i relatywnej zawartości wody w liściach oraz fluorescencji chlorofilu, (5) udział w ekstrakcji lipidów i metabolitów pierwotnych, (6) udział w analizie LC-MS i GC-MS oraz identyfikacji lipidów, (7) wykonanie analiz statystycznych, (8) udział w interpretacji wyników oraz sformułowanie wniosków płynących z przeprowadzonych badań, (9) opracowanie wyników badań pod kątem sposobu ich prezentacji w publikacji, (10) przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz prezentowanych figur.

Publikacja powstała w wyniku realizacji kierowanego przeze mnie projektu NCN PRELUDIUM (nr 2014/13/N/NZ9/00914), realizowanego w latach 2015-2017.

- H2. Perlikowski D.***, Augustyniak A., Skirycz A., Pawłowicz I., Masajada K., Michaelis Ä., Kosmala A. (2020). Efficient root metabolism improves drought resistance of *Festuca arundinacea*. *Plant and Cell Physiology* 61: 492-504. DOI:10.1093/pcp/pcz215.

IF₂₀₂₀ = 4,927 / IF_{5-Year} = 5,516 / MNiSW = 140 / Cyt: 20

Mój wkład w przygotowanie publikacji obejmował: (1) opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie układu eksperymentalnego pracy, postawienie hipotez badawczych i wyznaczenie głównych celów badań, (2) udział w przeprowadzeniu eksperymentu symulowanych warunków deficytu wody, (3) udział w analizie zmian morfologicznych pędów oraz korzeni, (4) pomiary fizjologiczne wycieku elektrolitów, zawartości i relatywnej zawartości wody w liściach, (5) ekstrakcję lipidów i metabolitów pierwotnych, (6) udział w analizie LC-MS i GC-MS oraz identyfikacji lipidów i metabolitów pierwotnych, (7) ekstrakcję białek oraz przygotowanie map 2-D proteomu korzenia, (8) wyselekcjonowanie białek do identyfikacji, (9) wykonanie analiz statystycznych, (10) udział w interpretacji wyników oraz sformułowanie wniosków płynących z przeprowadzonych badań, (11) opracowanie wyników badań pod kątem sposobu ich prezentacji w publikacji, (12) przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz prezentowanych figur.

Publikacja powstała w wyniku realizacji kierowanego przeze mnie projektu NCN PRELUDIUM (nr 2014/13/N/NZ9/00914), realizowanego w latach 2015-2017.

- H3. Perlikowski D.**, Lechowicz K., Skirycz A., Michaelis Ä., Pawłowicz I.*, Kosmala A. (2022). The role of triacylglycerol in the protection of cells against lipotoxicity under drought in *Lolium multiflorum*/*Festuca arundinacea* introgression form. *Plant and Cell Physiology* 63: 353-368. DOI: 10.1093/pcp/pcac003.

IF₂₀₂₂ = 4,9 / IF_{5-Year} = 5,7 / MNiSW = 140 / Cyt: 8

Mój wkład w przygotowanie publikacji obejmował: (1) udział w wyznaczeniu hipotez badawczych i głównych celów badań, (2) udział w przeprowadzeniu eksperymentu symulowanych warunków deficytu wody, (3) udział w ekstrakcji lipidów we wszystkich punktach czasowych prowadzonego eksperymentu, (4) udział w wykonaniu analizy LC-MS oraz identyfikację lipidów, (5) udział w analizie danych transkryptomicznych pod kątem zmian akumulacji mRNA związanych z metabolizmem lipidów błonowych, (6) integrację danych transkryptomicznych i lipidomicznych, (7) analizę statystyczną, (8) udział w interpretacji wyników oraz sformułowanie wniosków płynących z przeprowadzonych badań, (9) udział w opracowaniu wyników badań pod kątem sposobu ich prezentacji w publikacji oraz udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu.

Publikacja powstała w wyniku realizacji projektu NCN OPUS (nr 2016/23/B/NZ9/00820), realizowanego w latach 2017-2021, którego byłem współwykonawcą.

- H4. Perlikowski D.***, Skirycz A., Marczak Ł., Lechowicz K., Augustyniak A., Michaelis Ä., Kosmala A. (2023). Metabolism of crown tissue is crucial for drought tolerance and recovery after stress cessation in *Lolium/Festuca* forage grasses. *Journal of Experimental Botany* 74: 396-414. DOI: 10.1093/jxb/erac398.

IF₂₀₂₃ = 5,8 / IF_{5-Year} = 6,9 / MNiSW = 140 / Cyt: 6

Mój wkład w przygotowanie publikacji obejmował: (1) zaplanowanie całego układu eksperymentalnego pracy, (2) postawienie hipotezy badawczej i wyznaczenie głównych celów badań, (3) udział w przeprowadzeniu eksperymentu symulowanych warunków deficytu wody, (4) wykonanie pomiarów wycieku elektrolitów, zawartości i relatywnej zawartości wody w liściach oraz zawartości kwasu abscysynowego w tkankach, (5) udział w ekstrakcji lipidów i metabolitów pierwotnych, (6) udział w wykonaniu analizy LC-MS oraz identyfikacji lipidów, (7) integrację danych metabolomicznych, lipidomicznych i fizjologicznych oraz analizę statystyczną danych, (8) opracowanie wyników badań pod kątem sposobu ich prezentacji w publikacji, (9) interpretację wyników oraz sformułowanie wniosków płynących z przeprowadzonych badań, (10) przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu oraz prezentowanych figur.

- H5. Perlikowski D.***, Lechowicz K., Pawłowicz I. Arasimowicz-Jelonek M., Kosmala A. (2022). Scavenging of nitric oxide up-regulates photosynthesis under drought in *Festuca arundinacea* and *F. glaucescens* but reduces their drought tolerance. *Scientific Reports* 12, 6500. DOI: 10.1038/s41598-022-10299-5.

IF₂₀₂₂ = 4,6 / IF_{5-Year} = 4,9 / MNiSW = 140 / Cyt: 13

Mój wkład w przygotowanie publikacji obejmował: (1) udział w wyznaczeniu hipotezy badawczej i głównych celów badań, (2) udział w zaplanowaniu układu eksperymentalnego, (3) przeprowadzenie eksperymentu symulowanych warunków deficytu wody, (4) wykonanie pomiarów wycieku elektrolitów, zawartości i relatywnej zawartości wody w liściach oraz fluorescencji chlorofilu, (5) pomiary zawartości tlenu azotu oraz kwasu abscysynowego w tkankach, (6) wykonanie preparatów oraz analizy mikroskopowe, (7) integrację danych fizjologicznych, (8) analizę statystyczną, (9) opracowanie wyników badań pod kątem sposobu ich prezentacji w publikacji, (10) udział w interpretacji, dyskusji wyników oraz sformułowaniu wniosków płynących z przeprowadzonych badań, (11) przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu i prezentowanych figur.

Publikacja powstała, w wyniku realizacji projektu NCN OPUS (nr 2016/23/B/NZ9/00820), realizowanego w latach 2017-2021, którego byłem współwykonawcą.

H6. Perlikowski D.*, Lechowicz K., Blicharz S., Arasimowicz-Jelonek M., Czapiewska A., Pawłowicz I., Kosmala A. (2025) Nitric oxide regulates photosynthesis and the capacity of the antioxidant system under water deficit and rehydration in *Lolium multiflorum*/*Festuca arundinacea* introgression forms. *Frontiers In Plant Science* 16: 1652482. DOI: 3389/fpls.2025.1652482.

IF₂₀₂₄ = 4,8 / IF_{5-Year} = 5,7 / MNiSW = 100 / Cyt: 1

Mój wkład w przygotowanie publikacji obejmował: (1) udział w wyznaczeniu hipotezy badawczej i głównych celów badań, (2) udział w zaplanowaniu układu eksperymentalnego, (3) przeprowadzenie eksperymentu symulowanych warunków deficytu wody, (4) wykonanie pomiarów wycieku elektrolitów, zawartości i relatywnej zawartości wody w liściach oraz fluorescencji chlorofilu, (5) udział w wykonaniu pomiarów parametrów wymiany gazowej oraz zawartości reaktywnych form tlenu, (6) pomiary zawartości tlenku azotu oraz kwasu abscysynowego w tkankach, (7) udział w wykonaniu preparatów oraz analizach mikroskopowych, (8) integrację danych fizjologicznych, (9) analizę statystyczną, (10) opracowanie wyników badań pod kątem sposobu ich prezentacji w publikacji, (11) udział w interpretacji, dyskusji wyników oraz sformułowaniu wniosków płynących z przeprowadzonych badań, (12) przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu i prezentowanych figur.

Publikacja powstała, w wyniku realizacji projektu NCN OPUS (nr 2016/23/B/NZ9/00820), realizowanego w latach 2017-2021, którego byłem współwykonawcą.

4.3. Sumaryczne wskaźniki bibliometryczne dla głównego osiągnięcia naukowego:

- Impact Factor (IF) = **28,618** (zgodnie z rokiem opublikowania pracy)
- Punktacja MNiSW = **760** (lista Ministra zgodna z rokiem opublikowania pracy)
- Liczba cytowań wg bazy Web of Science = **78**
- Liczba cytowań bez autocytowań wg bazy Web of Science = **62**
(stan na dzień 10.03.2026 r.)

4.4. Omówienie celu naukowego ww. prac i uzyskanych wyników.

4.4.1. Wprowadzenie.

Rośliny rosnące na obszarach klimatu umiarkowanego narażone są na działanie często pojawiających się epizodów deficytu wody. Susza jest jednym z głównych czynników środowiskowych odpowiedzialnych za ograniczenie plonu roślin (Bray i in., 2000). W odpowiedzi na suszę niektóre gatunki roślin są w stanie modyfikować swoją morfologię i metabolizm, aby przetrwać okresy deficytu wody i powrócić do optymalnego funkcjonowania po jego zakończeniu (Dos Reis i in., 2012). Pośród reakcji roślin na deficyt wody, związanych z możliwością przetrwania tych niekorzystnych warunków środowiskowych, można zdefiniować kilka różnych strategii: 1) ucieczkę przed suszą, która opiera się na synchronizacji cyklu życia roślin z suszą sezonową oraz na zakończeniu wzrostu wegetatywnego rośliny przed wystąpieniem warunków stresowych, 2) unikanie suszy, odpowiedzialne za reorganizację morfologii roślin, jak również metabolizmu komórkowego (np. rozwój głębszych układów korzeniowych, zamknięcie aparatów szparkowych i zwijanie liści), w celu uniknięcia/zmniejszenia deficytu wody w organach i tkankach rośliny, szczególnie w trakcie długotrwałych warunków stresowych, 3) tolerancję suszy, związaną z indukcją przebudowy metabolizmu komórkowego, w celu zniwelowania uszkodzeń wewnątrzkomórkowych, spowodowanych deficytem wody w tkankach, zwykle w krótkoterminowych, ale intensywnych okresach suszy oraz 4) odrost po suszy i regenerację, które określają zdolność rośliny do szybkiego tworzenia nowych organów wegetatywnych oraz regeneracji ich uszkodzeń i przywrócenia metabolizmu po zakończeniu okresu deficytu wodnego (McCue i Hanson, 1990).

Szybka reakcja na warunki stresowe jest uwarunkowana właściwą sygnalizacją zmian warunków środowiska, która znajduje się pod ścisłą kontrolą hormonalną (Farooq i in., 2009). Spośród wszystkich znanych fitohormonów, kwas abscysynowy (ABA) wydaje się być najważniejszym związkiem sygnałowym produkowanym w odpowiedzi na abiotyczne czynniki stresowe, a zwłaszcza na deficyt wodny. Jego główne miejsca aktywności to pędy i liście. W tych narządach aktywuje on kaskadę reakcji, regulując wymianę gazową, w tym transpirację i asymilację dwutlenku węgla (Kang i Zhang, 2004). Głównym miejscem syntezy ABA są korzenie, które są pierwszym organem narażonym na działanie deficytu wody oraz pierwszą linią reakcji na ten czynnik stresowy (Schachtman i Goodger, 2008). W warunkach niedoboru wody ABA odgrywa istotną rolę w percepcji zmian środowiskowych oraz transferze sygnałów stresowych od korzeni do nadziemnych części roślin, aby przygotować rośliny do warunków deficytu wody. Mechanizm jego działania jest powiązany z akumulacją nadtlenu wodoru (H_2O_2), który jest niezbędny do aktywacji kanałów Ca^{2+} (Pei i in., 2000). Z drugiej strony, H_2O_2 poza funkcją sygnałową jest również klasyfikowany jako reaktywna forma tlenu (RFT), która w większych ilościach staje się wysoce toksyczna dla komórek roślinnych, prowadząc do peroksydacji lipidów i uszkodzenia błon (Huang i in., 2019). Ostatnie badania wykazały, że działanie ABA może być regulowane na wielu poziomach poprzez inne związki komórkowe. Jednym z takich związków jest tlenek azotu (NO), który uważa się za czynnik modulujący reakcję roślin na warunki stresowe (Leon i in., 2014). NO to mała cząsteczka gazowa obecna w komórkach roślinnych również w optymalnych warunkach środowiskowych. Małe rozmiary i niska polarność pozwalają na łatwe przenikanie NO przez błony (Casaretto i in., 2021). W tkankach roślin, cząsteczka ta może odgrywać podwójną funkcję, jako jedna z reaktywnych form azotu (RFA) (Corpas i in., 2008) oraz jako cząsteczka sygnałowa (Casaretto i in., 2021). Ponadto, NO może również wchodzić w interakcje z cząsteczkami RFT jak na przykład H_2O_2 . Obie te cząsteczki natomiast są zaangażowane w regulację zawartości osmotolitów, aktywności

układu antyoksydacyjnego, ruchu aparatów szparkowych i fotosyntezy (Wang i in., 2021). NO działa jako wtórny przekaźnik dla większości hormonów roślinnych, takich jak cytokininy, auksyny, etylen, kwas jasmonowy i ABA, modulując fizjologię roślin w reakcji na stres (Freschi, 2013).

W odpowiedzi na suszę zazwyczaj obserwuje się szeroki zakres reorganizacji biochemicznych w środowisku komórkowym i indukcję syntezy wielu związków metabolicznych. Zmiany te obejmują także akumulację czynników odpowiedzialnych za zmiatanie RFT (Chandler i Robertson, 1994). Homeostaza RFT utrzymywana jest poprzez prawidłowe funkcjonowanie m.in. enzymatycznego systemu antyoksydacyjnego, który stymulowany jest w warunkach suszy (Wang i in., 2014). System ten wymaga skoordynowanej aktywności wielu białek, takich jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), która neutralizuje $O_2^{\cdot-}$, reduktaza glutationowa (GR), peroksydaza askorbinianowa (APX) czy katalaza (CAT), które są zaangażowane są w zmiatanie nadtlenu wodoru. Wiele dowodów wskazuje na wspomagający wpływ egzogenego NO na enzymy układu antyoksydacyjnego, takie jak SOD, CAT i peroksydazy (POX) w warunkach stresu osmotycznego (Xing i in., 2004).

W warunkach krótkotrwałej suszy, zdolność roślin do tolerowania warunków stresowych odgrywa najważniejszą rolę, ponieważ pozwala na utrzymanie fotosyntezy i kontynuację metabolizmu komórkowego. Aby osiągnąć ten cel, roślina musi utrzymać homeostazę komórkową podczas braku wystarczającego zaopatrzenia w wodę. Można to osiągnąć poprzez przebudowę biochemii komórki, w tym poprzez reorganizację lipidów błonowych w celu zmniejszenia uszkodzeń błon komórkowych i utrzymania ich funkcji (Yu i Li, 2014). Potwierdzono, że tolerancja suszy jest ściśle związana ze stabilnością i integralnością błony komórkowej. (Yu i Li, 2014). Odwodnienie, ale także ponowne nawadnianie, wpływają na turgor komórkowy, rozciągając błonę i powodując jej mechaniczne uszkodzenia (Wolfe i Bryant, 1999). Biologiczne błony są istotnymi strukturami budującymi komórkę i jej poszczególne kompartmenty. Membrany te utrzymują procesy biologiczne we wszystkich żywych organizmach, w tym w roślinach, a także są ważną barierą komórkową, na którą wpływają bodźce środowiskowe, włącznie z czynnikami stresowymi, takimi jak susza (Heidarv i Maali-Amiri, 2010). Poziom wycieku elektrolitów (EL) w komórkach to istotny parametr fizjologiczny obrazujący poziom integralności błon biologicznych i jest często wykorzystywany w badaniach do oceny poziomu tolerancji stresów, w tym suszy, u roślin. Lipidy są głównymi strukturalnymi składnikami układów błon komórkowych, które w roślinach można podzielić na fosfoglicerolipidy i galaktoglicerolipidy (Gasulla i in., 2013). Błona komórkowa, reticulum endoplazmatyczne (ER) i otoczka jądrowa, składają się głównie z fosfoglicerolipidów, takich jak fosfatydylocholina (PC), fosfatydyloetanolamina (PE), fosfatydyloinozytol (PI) lub fosfatydyloseryna (PS) (Welti i in., 2002; Li i Vance, 2008). Chloroplasty natomiast posiadają złożoną wewnętrzną sieć tylakoidów związanych z reakcjami fotosyntetycznymi (Kern i in., 2009) i charakteryzują się unikalną kompozycją lipidową, w której dwa galaktoglicerolipidy, monogalaktozylodiacylloglicerol (MGDG) i digalaktozylodiacylloglicerol (DGDG) występują najliczniej. MGDG i DGDG stanowią odpowiednio około 50 i 25% całkowitej zawartości lipidów tylakoidowych. Pozostałe ważne klasy lipidów w tylakoidach to sulfochinowosylodiacylloglicerol (SQDG) i fosfatydyloglicerol (PG) (Dorne i in., 1990). MGDG oraz PE przyjmują kształt stożkowy, co determinuje powstawanie struktury błonowej nielamellarnej, heksagonalnej fazy II w środowisku wodnym, dzięki temu lipidy te zwiększają płynność błony. Natomiast lipidy klasy DGDG, SQDG, PG, PS i PC preferencyjnie tworzą strukturę dwuwarstwy lipidowej ze względu na ich cylindryczny kształt, a co za tym idzie biorą one udział w stabilizowaniu błony oraz zmniejszają jej płynność (Jouhnet, 2013). Ponadto, w komórkach obficie obecne są także

niestrukturalne lipidy, takie jak diacyloglicerol (DAG) i triacyloglicerol (TAG), a także wolne kwasy tłuszczowe (FFAs), pełniące ważne funkcje w metabolizmie lipidowym. Związki te są głównie substratami do biosyntezy lipidów strukturalnych, ale mogą również odgrywać inne role. Na przykład, TAG może być również materiałem magazynującym energię (Fan i in., 2017; Xu i in., 2020). W warunkach niedoboru wody dochodzi do destabilizacji błon komórkowych, co prowadzi do zakłócenia ciągłości błony, a także do utleniania chemicznego nienasyconych kwasów tłuszczowych wywołanego nagromadzeniem RFT, co w rezultacie może prowadzić chociażby do gromadzenia się bardzo toksycznego dla środowiska komórkowego dialdehydu malonowego (MDA). Ponadto, niedobór wody zakłóca drogę transportu elektronów w zależnych od światła reakcjach fotosyntetycznych. Zjawisko to wpływa także na generowanie RFT, które utleniają białka, kwasy nukleinowe oraz FFAs i inne pochodne lipidowe, bezpośrednio wpływając na stabilność błon (Gasulla i in., 2013; Xu i in., 2020). Tak więc przebudowa lipidomu komórkowego w niekorzystnych warunkach środowiskowych jest niezbędnym mechanizmem potrzebnym do zmniejszenia poziomu uszkodzenia błon i zwiększenia tolerancji roślin na suszę (Pereyra i in., 2006).

Innym charakterystycznym zjawiskiem dla suszy jest synteza różnego rodzaju metabolitów pierwotnych, takich jak: specyficzne cukry, alkohole lub aminokwasy, które mogą zwiększyć potencjał osmotyczny komórek, chroniąc środowisko komórkowe przed odwodnieniem i utrzymując aktywność enzymów (Yancey, 2005). Rozpuszczalne węglowodany, takie jak trehaloza lub fruktany, oraz aminokwasy, takie jak prolina, mogą z kolei działać jako ważne osmoregulatory i osmoprotektanty (Kido i in., 2013). Węglowodany, które są głównymi produktami fotosyntezy, są umieszczone w centralnej pozycji w metabolizmie komórek roślinnych, biorąc udział w większości szlaków metabolicznych. Jednakże związki te, oprócz ich głównej roli jako substratów do wzrostu i podziału komórek i materiału magazynującego energię, mogą być również ważnymi związkami związanymi z sygnalizacją i reakcją na stres (Fang i Xiong, 2015). Węglowodany charakteryzują się neutralnym charakterem, wysoką rozpuszczalnością i małymi rozmiarami, co pozwala im na utrzymanie potencjału wody w środowisku komórkowym i łatwą interakcję z innymi związkami komórek, takimi jak chociażby białka. (Xoconostle Cazares, i in., 2010). Aminokwasy natomiast biorą udział w detoksykacji RFT, regulacji osmotycznej (Krasensky i Jonak, 2012; Barchet i in., 2014), a także w metabolizmie szerokiego spektrum innych metabolitów, które odgrywają istotną rolę w reakcjach na stres. (Hildebrandt i in., 2015). Prolina jest jednym z najważniejszych wskaźników reakcji na suszę i tolerancji suszy ze względu na swoje kluczowe funkcje jako cząsteczka o charakterze osmoprotekcyjnym (Bandurska i Jóźwiak, 2010). Regulacja osmotyczna jest uważana za jeden z najważniejszych mechanizmów tolerancji deficytu wodnego, a także może odgrywać kluczową rolę w zdolności rośliny do regeneracji po zakończeniu stresu (Morgan, 1984).

Jednakże, podczas długotrwałego deficytu wodnego, opisane wyżej modyfikacje metabolizmu nie są wystarczające do utrzymania funkcji życiowych roślin. W związku z tym, aby przygotować roślinę do tych niekorzystnych warunków środowiskowych potrzebne są inne mechanizmy, w tym modyfikacje morfologii i metabolizmu systemu korzeniowego (Farooq i in., 2009). Rośliny rosnące w komfortowych warunkach polowych zwykle nie są ograniczone przez powierzchnię gleby, aby wyprodukować rozległy system korzeniowy, w celu zaopatrzenia organów zielonych w wystarczającą ilość wody potrzebną do zachowania prawidłowych funkcji metabolicznych. Jednak w okresie długotrwałego deficytu wodnego, zmniejszający się potencjał wodny w glebie oddziałuje w pierwszej kolejności na system korzeniowy, który u roślin charakteryzujących się zdolnością do unikania suszy, może być stymulowany przez hormonalne i niehormonalne czynniki sygnałowe do wzrostu

wydłużeniowego korzeni, w celu poszukiwania źródła wody w głębszych warstwach gleby, co jest najważniejszym atrybutem strategii unikania suszy (Verslues i in., 2006). Symulowane warunki polowe wydają się być idealne do analizy potencjału rośliny do unikania suszy. Jednakże dość trudno jest przeanalizować parametry związane z rozwojem korzeni w warunkach polowych. Tak więc eksperymenty polowe są zwykle wykorzystywane do wstępnej selekcji roślin w odniesieniu do ich zdolności do unikania suszy, a systemy korzeniowe wybranych roślin mogą być analizowane przy użyciu innych strategii eksperymentalnych, na przykład, systemu ryzotronowego w postaci tub wypełnionych medium i umieszczonych w fitotronie lub szklarni. Mimo to, bardzo często nawet rozwój głębokiego i rozległego systemu korzeniowego nie jest wystarczający, aby zaopatrzyć roślinę w wodę podczas długotrwałego deficytu wodnego, w związku z tym wiele gatunków roślin rozwinęło zdolności do efektywnej regeneracji uszkodzonych tkanek lub tworzenia nowych organów wegetatywnych z tkanek przetrwalnikowych po zakończeniu stresu. Regeneracja metabolizmu roślin po zakończeniu warunków stresowych odnosi się głównie do zdolności rośliny do przywrócenia możliwości wzrostu i produkcji świeżej biomasy (Luo, 2010).

Jedną z najważniejszych adaptacji roślin, szczególnie w odniesieniu do strategii odrostu, ale także tolerancji suszy i unikania, jest rozwój węzła krzewienia (Chakrabarti i in., 2022). Węzeł krzewienia jest ważnym organem podziemnym występującym u wszystkich roślin jednoliściennych. Węzeł krzewienia może spełniać wiele funkcji. Umożliwia on roślinom rozmnażanie się wegetatywnie i może również odgrywać kluczową rolę w procesie odrostu po zakończeniu warunków stresowych, w tym mrozu i suszy. W takich warunkach, liście roślin, łodygi i korzenie są częściowo lub nawet całkowicie uszkodzone (Rybka, 1994). Ten organ jest tkanką łączącą pędy i korzenie, oraz merystemem pierwotnym, ponieważ może indukować powstawanie nowych korzeni i pędów, (Chapman, 1998). Tak więc żywotność wielu gatunków jednoliściennych roślin, zwłaszcza tych, które żyją w ekstremalnych warunkach środowiska lub podlegają sezonowym stresom, zależy od żywotności węzłów krzewienia, które umożliwiają regenerację rośliny po zakończeniu stresu (Tanino i McKersie, 1985). W związku z tym, węzeł krzewienia musi przetrwać w niekorzystnych warunkach przez stosunkowo długi okres. Zjawisko to wymaga licznych zmian fizjologicznych i biochemicznych w strukturze tego organu (Pomortsev i in., 2018). Ponadto, położenie węzłów sprawia, że jest to skrzyżowanie w komunikacji między nadziemnych i podziemnych organami roślin, istotne dla transportu kluczowych związków metabolicznych. Węzeł krzewienia jest również doskonałym miejscem do magazynowania kluczowych składników odżywczych, które mogą być potrzebne do odrostu części wegetatywnych roślin po ustąpieniu warunków stresowych (Pomortsev i in., 2018).

Gatunki traw z rodzajów *Lolium* (życica) i *Festuca* (kostrzewa) są najważniejszymi uprawnymi gatunkami traw pastewnych w strefie klimatu umiarkowanego. Gatunki te charakteryzują się licznymi komplementarnymi cechami agronomicznymi (Thomas i Humphreys, 1991). Dla przykładu, *L. multiflorum* Lam. (życica wielokwiatowa), jeden z najistotniejszych użytkowych gatunków wśród traw pastewnych uprawianych w Europie, charakteryzuje się wysoką jakością paszowa i produktywnością w optymalnych warunkach uprawy i jednocześnie niską odpornością na stresy środowiskowe, takie jak deficyt wody, niska temperatura czy zasolenie gleby (Humphreys i Thomas, 1993). Z drugiej strony, alloheksaploidalny gatunek *F. arundinacea* Schreb. (kostrzewa trzcinowa) i jej tetraploidalna odmiana botaniczna *F. arundinacea* var. *glaucescens* Boiss. (dalej nazywana *F. glaucescens*) to dwie blisko spokrewnione trawy pastewne charakteryzujące się zdolnością do unikania warunków niedoboru wody (Humphreys i in., 1995). *F. arundinacea* posiada ogromny potencjał do rozwoju głębokiego i rozległego systemu korzeniowego. Ten gatunek charakteryzuje się także wysokim

poziomem tolerancji deficytu wody, poprzez przeprogramowanie swojego metabolizmu komórkowego zarówno na poziomie liści, jak i korzeni (Thomas i Humphreys, 1991). Z kolei *F. glaucescens* została wcześniej opisana jako gatunek charakteryzujący się głównie spowolnieniem metabolizmu i ograniczeniem wzrostu związanym z „uśpieniem” w warunkach suszy, a następnie zdolnością do odrostu po ustaniu warunków stresu (Humphreys i in., 1997; Humphreys i in., 2005). Jednakże *F. arundinacea* i *F. glaucescens* nie dorównują *L. multiflorum* pod względem jakości paszy (Humphreys i Thomas, 1993; Kosmala i in., 2012). Interesujące jest to, że tetraploidalne odmiany *L. multiflorum* ($2n = 4x = 28$) i heksaploidalne odmiany *F. arundinacea* ($2n = 6x = 42$) mogą się ze sobą krzyżować, tworząc częściowo płodne pentaploidalne mieszańce F1 ($2n = 5x = 35$). Zjawisko to daje możliwość przeniesienia różnych cech odporności na suszę z *F. arundinacea* do *L. multiflorum* na drodze introgresji, poprzez krzyżowanie wsteczne pentaploidalnego mieszańca do diploidalnych lub tetraploidalnych odmian *L. multiflorum* (Perlikowski i in., 2014; 2016a; 2016b). Zarówno *F. arundinacea*, *F. glaucescens*, jak i introgresywne formy *L. multiflorum* z genami *F. arundinacea* stanowią unikalny i wartościowy materiał badawczy, który może zostać wykorzystany do zrozumienia molekularnych podstaw unikania i tolerancji niedoboru wody u traw pastewnych.

4.4.2. Omówienie wyników badań.

- H1** Perlikowski D.*, Augustyniak A., Masajada K., Skirycz A., Soja A. M., Michaelis Ä., Wolter G., Kosmala A. (2019). Structural and metabolic alterations in root systems under limited water conditions in forage grasses of *Lolium-Festuca* complex. *Plant Science* 283: 211-223.
- H2** Perlikowski D.*, Augustyniak A., Skirycz A., Pawłowicz I., Masajada K., Michaelis Ä., Kosmala A. (2020). Efficient root metabolism improves drought resistance of *Festuca arundinacea*. *Plant and Cell Physiology* 61: 492-504.

W pierwszym etapie badań analizowano reakcję traw pastewnych na deficyt wody, związaną ze strategią unikania suszy. Głównym celem tych prac było rozpoznanie wybranych elementów reakcji komórkowej korzeni na długotrwały niedobór wody w warunkach symulowanych.

Do badań wybrano dwie grupy roślin. Pierwsza grupa obejmowała dwa genotypy *F. arundinacea* o odmiennym poziomie tolerancji deficytu wody, genotyp Fa-HDT (high drought tolerant) o wysokim poziomie tolerancji suszy oraz genotyp Fa-LDT (low drought tolerant) o niskim poziomie tolerancji suszy (**H2**). Rośliny te zostały wyselekcjonowane we wcześniejszych badaniach (Kosmala i in., 2012). Druga grupa roślin obejmowała dwie formy introgresywne *L. multiflorum*/*F. arundinacea* o odmiennym poziomie tolerancji deficytu wody, genotyp INT-HDT o wysokim poziomie tolerancji suszy oraz genotyp INT-LDT o niskim poziomie tolerancji suszy (**H1**), które zostały wyselekcjonowane we wcześniejszych badaniach prowadzonych w symulowanych warunkach polowych (Perlikowski i in., 2014).

Przyjęto następujące hipotezy badawcze: (i) różnica w reakcji na warunki niedoboru wody i w poziomie tolerancji tego stresu obserwowana pomiędzy dwiema formami introgresywnymi w warunkach polowych była związana z różnicami w budowie morfologicznej i wydajności metabolicznej korzeni w warunkach progresywnego deficytu wody (**H1**) oraz (ii) różnica w reakcji na warunki niedoboru wody i w poziomie tolerancji

tego stresu obserwowana pomiędzy dwoma genotypami *F. arundinacea* w trakcie ich uprawy w doniczkach była związana z różnicami w wydajności metabolicznej korzeni w warunkach narastającego deficytu wody (**H2**).

Aby zweryfikować te hipotezy przeprowadzono eksperymenty przy wykorzystaniu wyselekcjonowanych roślin, używając „systemu wazonowego”, w celu oceny ich zdolności do unikania suszy w symulowanych warunkach długotrwałego deficytu wody, odzwierciedlających warunki polowe. W trakcie eksperymentu, analizowano zarówno architekturę systemu korzeniowego, jak i poziom akumulacji metabolitów pierwotnych, lipidów i hormonów roślinnych w korzeniach wyselekcjonowanych roślin. W przypadku genotypów *F. arundinacea* przeanalizowano także zmiany na poziomie proteomu, wykorzystując do tego celu technikę elektroforezy dwukierunkowej i spektrometrii mas. Założono, że różnice w badanych parametrach morfologicznych, fizjologicznych i molekularnych będą odzwierciedlać różnice w poziomie tolerancji deficytu wody, obserwowane u wybranych form introgresywnych i genotypów *F. arundinacea*. Dla szczegółowej oceny morfologii i metabolizmu korzeni w warunkach niedoboru wody system wazonowy okazał się najbardziej odpowiedni, ponieważ umożliwiał on prawie nieograniczony wzrost wydłużeniowy korzeni i jednocześnie łatwiejsze wydobycie nienaruszonych korzeni do dalszych analiz morfologicznych, fizjologicznych i molekularnych. Formy introgresywne oraz genotypy *F. arundinacea*, zostały poddane 64 dniowemu okresowi narastającego deficytu wodnego, a następnie 14 dniowemu okresowi ponownego nawodnienia.

W indukowanych warunkach deficytu wody u obu form introgresywnych parametry fizjologiczne liści oraz morfologia pędów i korzeni zostały zaburzone przez warunki deficytu wody, jednak jednocześnie zaobserwowano różnice pomiędzy dwiema badanymi formami, INT-HDT i INT-LDT. Najważniejsze różnice związane były z morfologicznymi cechami systemu korzeniowego. Forma INT-HDT, począwszy od 21 dnia niedoboru wody, charakteryzowała się znacznie intensywniejszym rozwojem systemu korzeniowego, w tym większą liczbą, suchą masą i średnią długością korzeni w porównaniu z formą INT-LDT. Ponadto, maksymalna długość korzeni u tej formy osiągnęła prawie maksymalną możliwą wydajność użytego systemu wazonowego po 64 dniach niedoboru wody, znacznie przekraczając wartości obserwowane w warunkach kontrolnych. Forma ta charakteryzowała się również zdolnością do rozwijania krótkich bocznych korzeni przybyszowych na końcach korzeni głównych, które mogłyby poprawić wchłanianie wody; ich obecność stwierdzono tylko u formy INT-HDT. Te parametry miały znaczący wpływ na stosunki wagi i powierzchni korzeni do pędów, które znacząco wzrosły po 64 dniach niedoboru u tej formy (**H1**). Sugeruje się, że najważniejsze cechy związane z poprawą plonowania w warunkach ograniczonego dostępu do wody są związane z szybkością wydłużania korzeni, produkcją korzeni bocznych i ze zmianami w stosunku korzeni do pędów (Nardini i in., 2002; Lilley i Kirkegaard, 2011). W przypadku genotypu INT-HDT intensywny wzrost wydłużeniowy korzeni oraz inne zmiany morfologiczne korzeni były bez wątpienia indukowane deficytem wody. W przypadku *F. arundinacea* wykazano, że oba genotypy *F. arundinacea* rozwinęły długie systemy korzeniowe po 64 dniach deficytu wodnego, przekraczające możliwości użytego systemu wazonowego, oraz w podobnym stopniu ograniczyły transpirację i zahamowały wzrost pędów. Zaobserwowano jedynie istotnie szybszy wzrost długości korzeni u genotypu Fa-HDT już po 21 dniach niedoboru wody. Zaobserwowano, że genotyp Fa-LDT wykazywał większą średnią długość korzeni po 64 dniach niedoboru wody, jednak efekt ten prawdopodobnie był związany z ograniczoną produkcją nowych korzeni, widoczną u tego genotypu (**H2**).

Różnice w parametrach korzeni obserwowane pomiędzy analizowanymi formami introgresywnymi znacząco wpłynęły na funkcjonowanie nadziemnych części roślin i miały odzwierciedlenie w różnicach parametrów fizjologicznych i morfologicznych, opisujących wydajność metabolizmu pędów. Przeprowadzone analizy fizjologiczne liści wskazały na istotne różnice w parametrze wycieku elektrolitów po 64 dniach deficytu wodnego i 14 dniach ponownego nawodnienia wskazując, że forma INT-HDT charakteryzowała się mniejszym uszkodzeniem błony komórkowej liści w warunkach suszy. Obie badane formy zahamowały rozwój pędów w warunkach niedoboru wody, warunki stresowe miały jednak dużo mniejszy wpływ na genotyp INT-HDT, który charakteryzował się większą liczbą liści i pędów oraz wyższym parametrem suchej masy pędów, w porównaniu do genotypu INT-LDT, szczególnie po 64 dniach trwania eksperymentu. W przypadku formy introgresywnej INT-LDT, redukcja wzrostu była związana głównie ze zjawiskiem wysychania pędów i liści, co prowadziło do ich śmierci; zaobserwowano zmniejszającą się liczbę żywych pędów wraz z narastaniem warunków stresowych. Co ciekawe, u obu form zaobserwowano wzrost stosunku wagi do powierzchni pędów w warunkach postępującego niedoboru wody. Zjawisko to mogło być związane ze wzrostem akumulacji metabolitów pierwotnych, w tym związków osmotycznie czynnych, który był obserwowany w liściach tych roślin w krótkotrwałych warunkach niedoboru wody (Perlikowski i in., 2016a). Gromadzenie się tych związków może zmniejszyć potencjał wody liści (Serraj i Sinclair, 2002) i być odpowiedzialne za obserwowany wzrost relatywnej zawartości wody (RWC) w liściach analizowanych form introgresywnych (**H1**). Natomiast wyniki uzyskane dla genotypów *F. arundinacea* wyraźnie pokazały, że zastosowane warunki eksperymentalne istotnie wpłynęły na obydwa analizowane genotypy, co objawiało się zahamowaniem wzrostu pędów, redukcją transpiracji i wydajności fotosyntezy, której towarzyszyła zmniejszona przewodność szparkowa. Istotną redukcję RWC zaobserwowano wyłącznie dla genotypu Fa-LDT po 21 oraz 64 dniach deficytu wody, jednak po ponownym nawodnieniu wartość tego parametru powróciła do poziomu obserwowanego w warunkach kontrolnych. Po 64 dniach stresu wodnego wskaźnik wycieku elektrolitów (EL) wzrósł jedynie nieznacznie u genotypu Fa-HDT, natomiast wyraźnie w przypadku genotypu Fa-LDT. Po nawodnieniu zmiany te ustąpiły, jednak do wartości kontrolnych powrócił wyłącznie genotyp Fa-HDT. W porównaniu z warunkami nawadniania stwierdzono także, że po 7 i 21 dniach niedoboru wody genotyp Fa-LDT charakteryzował się silniejszym zahamowaniem wzrostu pędów. Dodatkową modyfikacją morfologiczną w warunkach postępującego stresu wodnego było zwijanie liści, szczególnie wyraźne dla genotypu Fa-LDT po 64 dniach niedoboru wody. Wskazuje to, że genotyp Fa-LDT był bardziej wrażliwy na warunki suszy, co przejawiało się większymi zaburzeniami RWC oraz uszkodzeniami błon komórkowych. Z drugiej strony, genotyp ten wykazywał zdolność do regeneracji metabolizmu po zakończeniu stresu. Regeneracja ta nie była kompletna, ponieważ parametry fotosyntezy u obu genotypów po nawodnieniu nie uległy istotnej zmianie. Zjawisko to może być częściowo spowodowane nadal zamkniętymi aparatami szparkowymi, a częściowo również uszkodzeniami fotosystemów lub niższą aktywnością enzymów cyklu Calvina (Perlikowski i in., 2014; Perlikowski i in., 2016a). Jednak parametry morfologiczne korzeni w warunkach stresowych nie różniły się znacząco od tych obserwowanych równolegle w warunkach kontrolnych dla genotypu Fa-HDT w 64 dniu deficytu wody, wskazując, że rozwój korzenia u *F. arundinacea* może być raczej cechą konstytutywną i stres wody może mieć istotny wpływ na morfologię korzeni tylko na wczesnym etapie suszy u tego gatunku (**H2**).

Metabolizm komórkowy korzeni zmienił się podczas eksperymentu i zaobserwowano wyraźne różnice między analizowanymi formami introgresywnymi. Aby zwiększyć wchłanianie wody, rozpuszczalne w wodzie związki są zwykle relokowane do rosnących korzeni, których rozwój jest kluczowy dla strategii unikania suszy

(Kavar i in., 2008). Znacząco wyższe nagromadzenie sacharozy i glukozy zaobserwowano u formy INT-HDT w 64 dniu niedoboru wody, a zjawisko to mogło być związane z przemieszczeniem zasobów energetycznych do korzeni, co mogło mieć istotny wpływ na zdolność tej formy do rozwoju rozbudowanego systemu korzeniowego. Ponadto, zjawisko akumulacji cukrów wraz z wyższym poziomem proliny w korzeniach u formy INT-HDT w 64 dniu niedoboru wody mogło również wpływać na obniżenie potencjału osmotycznego korzeni, zwiększając tym samym zdolność korzeni do asymilacji wody (**H1**). Z kolei genotypy *F. arundinacea* charakteryzowały się podobną strategią akumulacji metabolitów pierwotnych w korzeniach w warunkach niedoboru wody. Ponadto, w przypadku genotypu Fa-HDT można było zaobserwować znacznie większą repozycję do korzeni węglowodanów takich jak altoza, fruktoza, glukoza lub maltoza, szczególnie w 21 dniu deficytu wody, co korelowało z rozwojem dłuższych korzeni u tego genotypu. W warunkach niedoboru wody u obu analizowanych genotypów odnotowano obniżenie poziomu akumulacji większości aminokwasów. Wyjątek stanowiły prolina, ornityna oraz histydyna, których zawartość uległa zwiększeniu. Ponadto po 64 dniach stresu wodnego genotyp Fa-HDT charakteryzował się wyższymi poziomami zawartości wszystkich analizowanych aminokwasów, w porównaniu z genotypem Fa-LDT. Co więcej, po nawodnieniu większość aminokwasów nadal wykazywała wyższy poziom akumulacji w przypadku genotypu Fa-HDT (**H2**). Gromadzenie osmotycznie aktywnych związków, takich jak rozpuszczalne cukry, alkohole cukrowe, aminokwasy, kwasy organiczne w korzeniach może zmniejszyć potencjał osmotyczny komórek, a tym samym zwiększyć zdolność do wchłaniania wody przez korzenie podczas obniżonego potencjału wody w glebie. Pozwala także utrzymać turgor komórkowy, aby uniknąć efektów odwodnienia (Serraj i Sinclair, 2002; Farooq i in., 2009). Wiele związków, takich jak trehaloza, oligosacharydy czy prolina, odgrywa również istotną rolę w stabilizacji błon biologicznych (Hoekstra i in., 2001). Osmolity gromadzone w korzeniach sprzyjały głębszej penetracji gleby przez korzenie i bardziej efektywnej ekstrakcji wody w przypadku genotypu INT-HDT. Potwierdzają to również nasze wcześniejsze wyniki (Perlikowski i in., 2016a), wykazujące wyższy poziom akumulacji osmolitów w liściach genotypu INT-HDT w warunkach intensywnego, krótkotrwałego niedoboru wody.

W trakcie analizy lipidomu komórek korzeni zidentyfikowano siedem klas lipidów. Fosfoglicerolipidy błonowe były reprezentowane przez PC, PE, PI, PG oraz PS. Wśród lipidów metabolicznych zidentyfikowano DAG i TAG. Lepsza wydajność metaboliczna korzeni w warunkach deficytu wody u formy INT-HDT mogła być również związana ze stosunkowo szybką przebudową błon komórkowych komórek korzeni, co w konsekwencji mogło mieć znaczący wpływ na ich stabilność i skutkowało lepszym funkcjonowaniem korzeni w tych warunkach. Stabilność błon biologicznych w warunkach niedoboru wody jest uważana za jedną z najważniejszych cech tolerancji suszy (Bajji i in., 2002). Ważnym zjawiskiem obserwowanym w korzeniach analizowanych form introgresyjnych było zwiększenie współczynnika PC:PE, co było obserwowane zwłaszcza w przypadku genotypu INT-HDT, zarówno w suszy jak i po ponownym nawodnieniu. Może odpowiadać to za większą stabilność błon korzeniowych u tego genotypu oraz lepszą wydajnością transportu wody korzeni w warunkach deficytu wody, ponieważ PC promuje strukturę dwuwarstwową membrany, a tym samym jej stabilność, co jest ważną adaptacją do stresu niedoboru wody (**H1**). Analiza poziomu akumulacji fosfoglicerolipidów błonowych korzeni, analizowanych genotypów *F. arundinacea*, wykazała, że po 21 dniach niedoboru wody akumulacja większości lipidów, zwłaszcza wysoko nienasyconych, zmniejszyła się. Zjawisko to było głównie obserwowane u genotypu Fa-LDT i wpłynęło także na malejący wskaźnik wiązań podwójnych (DBI). Analizowany czynnik jednoznacznie wskazał, że genotyp Fa-LDT reagował znacznie silniej na warunki stresowe po 21 i 64 dniach ich trwania. Co

ciekawe, po nawodnieniu ten genotyp zdołał przywrócić równowagę w lipidomie błonowym, w tym również DBI (**H2**). Jednak w przypadku genotypów *F. arundinacea* reorganizacja lipidomu nastąpiła znacznie później niż było to widoczne u form introgresywnych, zjawisko to może być związane ze znacznie głębszą penetracją gleby przez korzenie *F. arundinacea*, co mogło opóźnić reakcję tych roślin na niekorzystne warunki. W przypadku obu form introgresywnych można było zaobserwować wyraźny wzrost poziomu akumulacji TAG. W tej grupie lipidów najwyższy poziom akumulacji zaobserwowano dla lipidów o niskim stopniu nasycenia (**H1**). Oba analizowane genotypy *F. arundinacea* również gromadziły duże ilości nienasyconych TAG z krótszymi łańcuchami kwasów tłuszczowych w warunkach stresowych. Genotyp Fa-HDT charakteryzował się znacząco wyższą zawartością TAG w suszy, natomiast genotyp Fa-LDT po nawodnieniu (**H2**). Wcześniejsze doniesienia literaturowe wskazują na to, że działanie stresów abiotycznych wywołuje akumulację TAG w liściach (Degenkolbe i in., 2012), także w przypadku analizowanych form introgresywnych w czasie krótkotrwałego deficytu wody (Perlikowski i in., 2016b). Jednak zjawisko nagromadzenia TAG w korzeniach roślin w odpowiedzi na suszę nie zostało jeszcze w pełni rozpoznane.

Parametry wzrostu pędów i korzeni są pod ścisłą kontrolą hormonalną, akumulacja ABA znacząco hamuje wzrost pędów i stymuluje rozwój korzeni w warunkach niedoboru wody (Kang i Zhang, 2004). Susza ma także negatywny wpływ na akumulację innych hormonów roślinnych zaangażowanych we wzrost i rozwój pędów i korzeni, w tym auksyn i cytokinin (Schachtman i Goodger, 2008). W warunkach narastającego deficytu wody, obie formy introgresywne, wykazały podobny wzrost zawartości ABA, ale forma INT-HDT charakteryzowała się nieco wyższym jego nagromadzeniem w liściach w 64 dniu deficytu wody (**H1**), co mogłoby wpłynąć na indukcję wzrostu wydłużeniowego korzeni u tej formy oraz przebudowę lipidów korzeniowych (Golldack i in., 2014). Zwiększony poziom akumulacji ABA w pędach i korzeniach genotypów *F. arundinacea* w warunkach deficytu wody zredukował wzrost części nadziemnych roślin i mógł stymulować tempo wzrostu wydłużeniowego korzeni. Z drugiej strony, wydaje się, że nie miał on istotnego wpływu na wzrost stosunku masy i liczby korzeni do pędów w tej grupie roślin. Zjawisko to zostało opisane wcześniej w przypadku kukurydzy (Giuliani i in., 2005) i jęczmienia (Siopongco i in., 2008). Co ciekawe, poziom ABA znacząco spadł do wartości kontrolnych po 64 dniach deficytu wody w liściach i po ponownym nawadnianiu w korzeniach, ale tylko dla genotypu Fa-HDT. Towarzyszyło temu także przywrócenie równowagi w stosunku auksyn do cytokinin w liściach do wartości kontrolnych w przypadku tego genotypu (**H2**). Z drugiej strony, nie zaobserwowano jednak jednoczesnej poprawy efektywności fotosyntezy, co wskazano w przypadku form introgresywnych (**H1**). Otrzymane w trakcie eksperymentu wyniki akumulacji cytokinin i auksyn w liściach i korzeniach form introgresywnych wskazywały, że wyższy poziom auksyn i stabilny poziom cytokinin w liściach genotypu INT-HDT może być odpowiedzialny za bardziej intensywny wzrost pędów, wyższy stopień transpiracji i większy poziom akumulacji związków osmotycznie czynnych, obserwowany wcześniej w liściach u tej formy (Perlikowski i in., 2016a). Ponadto, stabilny poziom cytokinin i auksyn w korzeniach INT-HDT podczas eksperymentu mógł być związany z wydajniejszym działaniem systemu korzeniowego i wyższym poziomem akumulacji związków osmotycznie czynnych w korzeniu u tej formy introgresywnej w warunkach suszy (**H1**). Analiza zawartości tych hormonów w korzeniach i liściach u genotypów *F. arundinacea* wykazała, że wzrost stosunku auksyn do cytokinin w obu organach tych roślin może być związany z silnym hamowaniem wzrostu pędów, ale jednocześnie również z szybszym wydłużaniem korzeni, szczególnie obserwowanym u genotypu Fa-HDT. Ponadto, podwyższony stosunek auksyn do cytokinin w korzeniach po nawodnieniu, u obu analizowanych genotypów wskazuje na to, że

rośliny te nadal były stymulowane do produkcji nowych korzeni. Zostało to potwierdzone przez drugą obserwację, a mianowicie, średnia długość korzeni zmniejszyła się znacząco po nawodnieniu, szczególnie u genotypu Fa-LDT, co wskazuje na bardziej intensywną produkcję nowych korzeni u tej rośliny (**H2**).

Analiza proteomu przeprowadzona dla genotypów *F. arundinacea* pozwoliła na zidentyfikowanie kilka istotnych białek korzeniowych związanych z odpowiedzią na stresy, takich jak liaza laktoglutationowa, znana również jako glioksalaza I (Shimakawa i in., 2018), peroksyredoksyna 5 (Islam i in., 2015), białko rab18 (Xiong i Zhu, 2002) oraz dwa białka szoku cieplnego (HSP) (Wehmeyer i Vierling, 2000). Zidentyfikowane białka wykazywały wysoką akumulację w warunkach stresu, szczególnie u genotypu Fa-HDT. A zatem, wyższy poziom ich akumulacji mógł, przynajmniej częściowo, przyczynić się do lepszej wydajności funkcjonowania systemu korzeniowego u tego genotypu w warunkach deficytu wody (**H2**).

Regeneracja po ustąpieniu deficytu wody jest definiowana jako zdolność roślin do wznowienia procesów metabolicznych oraz rozwoju wegetatywnego po zakończeniu stresu (Luo, 2010). W naszych wcześniejszych pracach wykazano, że forma INT-HDT charakteryzowała się istotnym obniżeniem wskaźnika wycieku elektrolitów po nawodnieniu oraz wykazywała zdolność do ponownego wzrostu w warunkach polowych (Perlikowski i in., 2014). Ponadto, wykazano że po ponownym nawodnieniu forma INT-HDT akumulowała większe ilości metabolitów pierwotnych w liściach w porównaniu z formą INT-LDT (Perlikowski i in., 2016a). Podobne zjawisko zaobserwowano również w korzeniach formy INT-HDT, gdzie po nawodnieniu stwierdzono zwiększoną akumulację metabolitów pierwotnych oraz lipidów błonowych. Zmianom tym towarzyszyły wyższe wartości asymilacji CO₂, transpiracji oraz przewodnictwa szparkowego u formy INT-HDT. W niniejszej pracy wykazano ponadto, że po ponownym nawodnieniu forma INT-HDT charakteryzowała się redukcją średniej długości korzeni, co było głównie związane z intensywnym rozwojem nowych korzeni (**H1**). Sugeruje to, że zdolność regeneracji poprzez tworzenie nowych korzeni może stanowić cechę specyficzną dla gatunku lub genotypu i zależeć od wielu czynników, takich jak poziom nagromadzonych zasobów, pamięć stresowa oraz efektywność percepcji i sygnalizacji stresu (Comas i in., 2013). Genotyp Fa-LDT, bardziej podatny na warunki deficytu wody, charakteryzujący się wyraźniejszymi, negatywnymi zmianami parametrów fizjologicznych, był w rzeczywistości zdolny do odwrócenia wszystkich tych zmian po ponownym nawodnieniu. Po ustąpieniu stresu zaobserwowano również przywrócenie homeostazy lipidów błonowych w korzeniach do wartości obserwowanych w warunkach kontrolnych dla tego genotypu. Zjawisku temu towarzyszył również wzrost zawartości licznych węglowodanów oraz TAG, co mogło być związane z relokacją składników odżywczych z liści do korzeni, w celu zwiększonego rozwoju nowych korzeni po ponownym nawodnieniu u genotypu Fa-LDT (**H2**).

Podsumowanie:

Udowodniono, że dwie analizowane formy introgresywne, INT-HDT i INT-LDT, wybrane w warunkach polowych jako rośliny o różnej zdolności do unikania deficytu wody, miały w rzeczywistości różną zdolność do rozwijania głębokich systemów korzeniowych. Ponadto, wykazano, że zdolność do rozwijania głębokiego systemu korzeniowego przez formę INT-HDT była zależna od warunków środowiskowych. Strategia unikania suszy u obu form introgresywnych była również, przynajmniej częściowo, związana z obserwowanymi różnicami w metabolizmie korzeni.

Potwierdzono, że głęboki i dobrze rozwinięty system korzeniowy u *F. arundinacea* może stanowić kluczową cechę morfologiczną w strategii unikania deficytu wody dla tego gatunku. Wykazano jednocześnie, że strategia ta nie jest wystarczająca do całkowitego uniknięcia uszkodzeń wywołanych suszą, ani do przetrwania niekorzystnych warunków środowiskowych bez zaburzeń w metabolizmie komórkowym.

W wyniku kompleksowych badań systemu korzeniowego na poziomie proteomu, lipidomu oraz metabolomu pierwotnego, wykazano, że sprawność metaboliczna systemu korzeniowego jest równie istotna, co jego architektura w warunkach deficytu wody, w odniesieniu do strategii unikania i tolerancji stresu, jak i zdolności do regeneracji badanych roślin.

H3 Perlikowski D.*, Lechowicz K., Skirycz A., Michaelis Ä., Pawłowicz I.*, Kosmala A. (2022). The role of triacylglycerol in the protection of cells against lipotoxicity under drought in *Lolium multiflorum*/*Festuca arundinacea* introgression forms. *Plant and Cell Physiology* 63: 353-368.

Wcześniejsze badania (Perlikowski i in., 2016b; **H1**; **H2**) wskazały na istotne znaczenie akumulacji triacyloglicerolu w mechanizmach tolerancji deficytu wody u traw pastewnych. Dlatego kolejnym etapem prac naukowych było zrozumienie tego zjawiska w tej grupie roślin. Badania obejmowały (i) identyfikację lipidów metabolicznych i błonowych liści u dwóch form introgresywnych *L. multiflorum*/*F. arundinacea* charakteryzujących się zróżnicowanym potencjałem tolerancji deficytu wody (HDT i LDT); oraz (ii) analizę porównawczą uzyskanych profili lipidowych z profilami transkryptomu analizowanych form introgresywnych, służącą identyfikacji molekularnego podłoża reorganizacji składu lipidowego badanych roślin w warunkach deficytu wody.

W pracach założono, że zwiększona akumulacja wielonienasyconych lipidów z grupy TAG w warunkach suszy u form introgresywnych *L. multiflorum*/*F. arundinacea* odgrywa istotną rolę w ochronie komórek przed nagromadzeniem się wolnych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, które w wyniku peroksydacji mogą prowadzić do uszkodzenia struktur błonowych.

Przeprowadzono analizę składu lipidowego komórek liści w warunkach niedoboru wody oraz ponownego nawodnienia oraz analizę transkryptomu liścia u wyselekcjonowanych wcześniej form introgresywnych INT-HDT i INT-LDT (Lechowicz i in., 2020b).

Błony tylakoidów obfitują w nienasycone kwasy tłuszczowe, takie jak kwas oleinowy (C16:1) lub kwas alfa linolenowy (C18:3) (Vernotte i in., 1983), które są niezbędne do przeprowadzenia reakcji fotosyntezy zależnych od światła. Jednocześnie wysoki poziom nienasyceń kwasów tłuszczowych stanowiących budulec dla galaktoglicerolipidów sprawia, że są one szczególnie podatne na peroksydację spowodowaną przez RFT, powstających w chloroplastach (Xu i in., 2020). Tak więc enzymatyczny rozkład galaktolipidów MGDG i DGDG, obserwowany u obu form introgresywnych w zaawansowanym stadium deficytu wodnego, jest dobrze rozpoznany zjawiskiem zainicjowanym w celu uniknięcia gromadzenia w środowisku komórki toksycznych produktów utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych w wyniku działania stresu oksydacyjnego (Gigon i in., 2004; Ingle i in., 2008). Zjawisku temu towarzyszyła podwyższona ekspresja genów kodujących enzymy zaangażowane w rozkład galaktolipidów. Konwersja kwasów tłuszczowych, pochodzących z MGDG i DGDG, do

TAG jako mechanizmu indukujący stabilizację błon komórkowych i mechanizm ochrony przed lipotoksycznością, został już zaobserwowany wcześniej, (Moellering i Benning, 2011; Tan i in., 2018), jednak nie dla roślin jednoliściennych.

W trakcie deficytu wodnego obserwowano znaczne nagromadzenie wolnych kwasów tłuszczowych oraz neutralnych (metabolicznych) lipidów DAG i TAG u formy introgresywnej LDT. Nasze wcześniejsze badania przeprowadzone na innych formach introgresywnych *L. multiflorum*/*F. arundinacea*, jak również na genotypach *F. arundinacea*, pokazały zjawisko gromadzenia TAG w tkankach liści (Perlikowski i in., 2016b) i korzeni (**H1**, **H2**) w odpowiedzi na warunki deficytu wodnego. Zaobserwowano także pozytywną korelację pomiędzy akumulacją FFA i neutralnymi lipidami oraz podwyższonym poziomem EL w suszy u formy INT-LDT. Wyniki wyraźnie wykazały, że warunki stresowe miały istotny wpływ na wzrost zawartości FFA, co było prawdopodobnie związane z rozkładem lipidów błonowych. Zjawisku temu towarzyszyła podwyższona ekspresja większości genów kodującą fosfolipazy, a także obniżona ekspresja genów odpowiedzialnych za biosyntezę FFA. Nie można wykluczyć, że zjawisko to było ściśle związane z reakcją na warunki suszy i miało zapobiec nadmiernemu nagromadzeniu toksycznych FFA poprzez włączenie FFA, oraz innych produktów rozkładu lipidów, do TAG (Fan i in., 2013; Sanchez-Martín i in., 2018), zwłaszcza, że forma INT-LDT doświadczyła ekspozycji na znacznie wyższy poziom H_2O_2 w czasie deficytu wodnego (Lechowicz i in., 2020b), który mógłby negatywnie wpływać na stabilność nienasyconych kwasów tłuszczowych, generując toksyczne produkty reakcji kwasów tłuszczowych z RFT takie jak MDA.

W warunkach deficytu wodnego obserwowano podwyższoną ekspresję wielu genów zaangażowanych w biosyntezę DAG, ich prekursorów oraz TAG, co wskazuje na to, że niektóre geny mogą być szczególnie istotne dla zjawiska remodelowania lipidów oraz akumulacji TAG w warunkach stresu. Synteza TAG wymaga aktywności kilku enzymów, z których najważniejszymi są: acylotransferaza diacyloglicerolu, kodowana przez geny *DGAT*, która bezpośrednio włącza FFA i DAG do TAG, oraz acylotransferaza fosfolipidowo-diacyloglicerolowa (PDAT), która jest bezpośrednio zaangażowana w konwersję PC do TAG (Bates i Browse, 2012). W naszej pracy zaobserwowano podwyższony poziom transkrypcji genu *DGAT2* w warunkach stresowych, co podtrzymuje hipotezę, że obserwowana zwiększona akumulacja wielonienasyconych TAG u formy INT-LDT w warunkach suszy odgrywa istotną rolę w ochronie komórek przed nagromadzeniem się nadmiaru toksycznych kwasów tłuszczowych (Fan i in., 2013) i peroksydacją wielonienasyconych kwasów tłuszczowych.

Chociaż nagromadzenie TAG w reticulum endoplazmatycznym i tworzenie ciał lipidowych napędzane przez *DGAT2* jest dobrze rozpoznany zjawiskiem u roślin (Bates i Browse, 2012; Fan i in., 2017; Xu i in., 2020), to los galaktolipidów rozkładanych w chloroplastach jest wciąż niejasny (Xu i in., 2020). Ostatnie odkrycia jednak przybliżają nas do zrozumienia tego zjawiska i dostarczają nam informacji na temat procesu syntezy TAG i tworzenia plastoglobuli na krawędziach błon tylakoidowych (Li-Beisson i Carriere, 2020; Xu i in., 2020). Powstawanie plastoglobuli zawierających TAG wydaje się być istotnym mechanizmem ochrony chloroplastów w warunkach stresowych. We wcześniejszych pracach tylko *DGAT1* został rozpoznany u roślin wyższych jako enzym zaangażowany w akumulację TAG w chloroplastach (Kaup i in., 2002). Chociaż enzym ten nie został zidentyfikowany w naszych badaniach, możliwe jest, że jego funkcja w chloroplastach u traw pastewnych może być kompensowana przez *DGAT2*.

Zakończenie stresu i ponowne nawodnienie roślin wpłynęło istotnie na cofnięcie się wszystkich zmian powstałych w trakcie re-aranżacji lipidów w warunkach stresu wodnego. W związku z czym można przypuszczać, że u formy INT-LDT rozkład TAG i DAG, wraz z podwyższoną aktywnością enzymów antyoksydacyjnych (Lechowicz i in., 2020b), mógł w znacznym stopniu przyczynić się do szybkiej regeneracji błony po nawodnieniu (Cohen i in., 2000). Ponadto, zaobserwowano znaczne zmniejszenie stosunku lipidów PC/PE u obu form introgresywnych po ponownym nawodnieniu wynikające z nagromadzenia PE u obu form. Oznacza to, że PE może być zaangażowana w przywrócenie homeostazy lipidowej po zakończeniu stresu. Ponadto, PE może być zaangażowany w edycję TAG, która wydaje się być kluczowa dla regeneracji błony.

Podsumowanie:

Przedstawione wyniki wyraźnie pokazały istotne znaczenie galaktolipidów, fosfolipidów i nienasyconych neutralnych lipidów w odpowiedzi traw pastewnych kompleksu *Lolium-Festuca* na warunki suszy. Znaczące obniżenie poziomu nienasyconienia MGDG, PC i PS u formy introgresywnej LDT pomiędzy 6 i 10 dniem deficytu wodnego, mogło odgrywać ważną rolę w usuwaniu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i innych lipidowych prekursorów powstałych podczas rozkładu lipidów i przebudowy błony u formy INT-LDT w warunkach stresu wodnego. Zjawisku temu towarzyszyło również obniżenie ekspresji genów *FAD6* i *FAD7*, kodujących ważne desaturazy lipidowe (Burgos i in., 2011), oraz równoczesny wzrost poziomu nienasyconienia DAG i TAG.

Forma INT-HDT, o wysokim poziomie tolerancji suszy, charakteryzowała się stosunkowo nienaruszoną kompozycją lipidów, a poziom nienasyconienia łańcuchów tłuszczowych w poszczególnych frakcjach lipidowych nie zmienił się drastycznie w okresie suszy. Znalazło to odzwierciedlenie w stabilności i integralności błony komórkowej obserwowanej u tej formy. Z drugiej strony, u formy introgresywnej INT-LDT, bardziej podatnej na odwodnienie, widoczne były znaczne zmiany w lipidomie chloroplastowym, poza chloroplastowym i neutralnych lipidach, co prowadziło do zmniejszenia zawartości wielonienasyconych lipidów w strukturach błonowych oraz do wzrostu akumulacji frakcji wolnych kwasów tłuszczowych i DAG.

Akumulacja TAG w warunkach zaawansowanej suszy oraz zmiany akumulacji transkryptów genów zaangażowanych w biosyntezę TAG, głównie *DGAT2* u formy introgresywnej LDT, mogło pełnić funkcję ochronną przed nagromadzeniem toksycznych kwasów tłuszczowych, szczególnie wysokonienasyconych oraz innych lipidowych półproduktów w chloroplastach i poza nimi. Jednocześnie TAG mogły stanowić „bezpieczny” magazyn lipidów jako substratów i energii do dalszej regeneracji błon po zakończeniu suszy. Stabilny poziom TAG u formy introgresywnej HDT w trakcie suszy mógł być wywołany wyższą aktywnością systemu antyoksydacyjnego, niższym poziomem H_2O_2 , niższym nagromadzeniem kwasów tłuszczowych, a także bardziej zrównoważoną wydajnością fotosyntezy w warunkach stresowych.

Na podstawie analizy RNA zidentyfikowano liczne geny zaangażowane w reakcję traw pastewnych na deficyt wody, w tym geny kodujące enzymy biorące udział w syntezie i degradacji lipidów. Analizowane profile transkrypcyjne wielu z nich w trakcie deficytu wodnego wykazały związek z profilami akumulacji poszczególnych klas lipidów. Zidentyfikowane geny mogą być obiektem dalszej analizy funkcjonalnej, aby lepiej poznać molekularne aspekty tolerancji suszy u traw pastewnych.

H4 **Perlikowski D.***, Skirycz A., Marczak Ł., Lechowicz K., Augustyniak A., Michaelis Ä., Kosmala A. (2023). Metabolism of crown tissue is crucial for drought tolerance and recovery after stress cessation in *Lolium/Festuca* forage grasses. *Journal of Experimental Botany* 74: 396-414.

W kolejnym etapie badań skoncentrowano się na roli węzłów krzewienia w odniesieniu zarówno do przetrwania przez trawy pastewne warunków deficytu wody, jak i na ich zdolności do regeneracji po ustąpieniu warunków stresowych. Rola węzłów krzewienia w regulacji funkcjonowania roślin na poziomie fizjologiczno-molekularnym w warunkach deficytu wodnego, jest nadal słabo rozpoznana, zwłaszcza u traw pastewnych. Znaczenie tych organów może być szczególnie ważne, zważywszy, że nasze badania jasno wskazują, że w warunkach deficytu wodnego niektóre zasoby komórkowe są transportowane od pędów do rosnących korzeni. (**H1, H2**).

W badaniach wykorzystano grupę roślin wyselekcjonowanych we wcześniejszych eksperymentach: (i) dwa genotypy *F. arundinacea* charakteryzujące się zróżnicowanym poziomem tolerancji suszy (HDT i LDT) (Kosmala i in., 2012; Lechowicz i in., 2020a oraz **H2**) oraz (ii) dwie formy introgresywne *Lm/Fa* również różniące się pod względem poziomu tolerancji suszy (INT-HDT i INT-LDT) (Perlikowski i in., 2014 oraz **H1**).

W pracy postawiono następującą hipotezę: różnice w poziomie tolerancji suszy obserwowane między wybranymi roślinami są związane z metabolizmem ich węzłów krzewienia w warunkach stresowych. Ponadto, założono również, że aktywność metaboliczna węzłów może wpływać na zdolność roślin do regeneracji po przerwaniu działania czynnika stresowego, czyli po ponownym nawodnieniu.

Badania przeprowadzono w warunkach krótkotrwałego deficytu wody i następującemu po nich okresowi ponownego nawodnienia. Wyciek elektrolitów opisujący poziom uszkodzenia błon biologicznych i relatywna zawartość wody w liściach zostały użyte jako parametry fizjologiczne opisujące poziom tolerancji stresu u analizowanych genotypów *F. arundinacea* i form introgresywnych *Lm/Fa*. Uzyskane wyniki analiz fizjologicznych potwierdziły różnice w poziomie tolerancji suszy między *Fa*-HDT i *Fa*-LDT, a także między INT-HDT i INT-LDT. Rośliny HDT charakteryzowały się znacznie mniejszym uszkodzeniem błon i wyższym poziomem RWC w warunkach suszy, w porównaniu z roślinami LDT. Rośliny LDT wykazywały również zdolność do regeneracji metabolizmu po zakończeniu stresu, ponieważ po ponownym nawodnieniu, analizowane parametry fizjologiczne były podobne u wszystkich analizowanych roślin.

Jednym z pierwszych efektów niedoboru wody jest aktywacja ścieżki syntezy ABA w korzeniach, który jest następnie transportowany do pędów, aby rozpocząć reakcje kaskadowe prowadzące do aktywacji mechanizmów tolerancji suszy (Schachtman i Goodger, 2008). Susza znacząco wpłynęła na akumulację ABA w korzeniach i pędach analizowanych roślin. Produkcja ABA u *Fa*-HDT była istotnie stymulowana w korzeniach, ale nie była transportowana do liści w sposób proporcjonalny. Ponadto, poziom ABA w węzłach zmniejszył się w czasie suszy u wszystkich analizowanych roślin. Oznacza to, że w węzłach mógł zachodzić proces regulacji zawartości ABA transportowanego do pędów. Po ponownym nawodnieniu, prawie wszystkie rośliny zmniejszyły poziom ABA w korzeniach i pędach, a jednocześnie zauważono wyższą jego zawartość w węzłach. Można zatem wnioskować, że tkanka węzłów może być magazynem ABA w przypadku kolejnego epizodu niedoboru wody, przez co może być zaangażowana w mechanizmy pamięci stresowej.

Metabolity pierwotne, syntetyzowane głównie w liściach, odgrywają kluczową rolę w reakcji roślin na stresy abiotyczne, ponieważ są związane z magazynowaniem energii, zmiataniem RFT, osmoprotekcją i sygnalizacją stresową (Wen i in., 2015). W stabilnych, naturalnych warunkach, najwyższe stężenie głównych produktów fotosyntezy, takich jak węglowodany, aminokwasy lub kwasy tłuszczowe, obserwowane jest w liściach, gdzie są one wykorzystywane jako materiał budulcowy do wzrostu pędów, czy do produkcji kwiatów i nasion, podczas gdy w korzeniach ich zawartość jest stosunkowo niska (Gargallo-Garriga i in., 2014). Sytuacja ta ulega odwróceniu, gdy roślina musi radzić sobie z niedoborem wody. W takich warunkach indukowana jest znaczna alokacja metabolitów pierwotnych z pędów do korzeni. Zjawisko to zostało wcześniej zaobserwowane u odmian jednoliściennych roślin uprawnych, takich jak *Triticum aestivum* (Ullah i in., 2017) lub *Hordeum vulgare* (Kang i in., 2019). Alokacja metabolitów z liści do korzeni odbywa się przy udziale węzłów krzewienia, które stanowią w tym mechanizmie swoiste „skrzyżowanie dróg” transportu, zarówno symplastycznego, jak i apoplastycznego (Pomortsev i in., 2018). Wcześniejsze badania przeprowadzone na trawach pastewnych z kompleksu *Lolium–Festuca* również sugerują, że węzeł krzewienia może odgrywać kluczową rolę podczas odpowiedzi roślin na deficyt wodny oraz w trakcie regeneracji roślin po ustąpieniu warunków suszowych (Perlikowski i in., 2016a oraz **H1**, **H2**). Wcześniejsze badania wykazały między innymi, że forma INT-HDT była zdolna do gromadzenia większej ilości metabolitów pierwotnych w korzeniach narażonych na niedobór wody, co było również powiązane z bardziej intensywnym wzrostem korzeni u tej formy. Jednakże najbardziej intensywny transport metabolitów pierwotnych w kierunku korzeni był zauważalny po ponownym nawodnieniu u obu analizowanych form introgresywnych (**H1**). W przypadku aminokwasów zaobserwowano podwyższoną akumulację tych związków w liściach podczas deficytu wodnego u badanych form introgresywnych, zjawisko to było bardziej charakterystyczne dla formy INT-HDT (Perlikowski i in., 2016a). Z drugiej strony, wyniki uzyskane dla węzłów krzewienia wskazywały, że forma INT-LDT charakteryzowała się znacznie wyższym poziomem akumulacji aminokwasów, zwłaszcza prolina i ornityny. Co ciekawe, poziom tych związków nie uległ znacznej zmianie w liściach u tej formy w warunkach suszy. Ponadto w przypadku analizowanych form introgresywnych nie obserwowano istotnego transferu aminokwasów do korzeni w warunkach suszy (**H1**). Jedynym wyjątkiem były prolina i walina, które zgromadzone zostały w większym stopniu u formy INT-HDT. Omówione zjawiska mogą być związane z odmiennym mechanizmem tolerancji suszy różnicującym obie analizowane formy introgresywne. Podczas gdy metabolizm formy INT-HDT mógł być bardziej skoncentrowany na przetrwaniu i utrzymaniu funkcji komórkowych liści w warunkach suszy, metabolizm INT-LDT mógł z kolei być bardziej ukierunkowany na przeniesienie istotnych metabolitów, w tym osmoprotektantów do tkanki węzłów, w celu jej stabilizacji i umożliwienia szybkiego odrostu pędów po ponownym nawodnieniu, co zaobserwowano również w warunkach polowych u tych roślin (Perlikowski i in., 2014). Nieco inną strategię funkcjonowania węzłów krzewienia zaobserwowano w przypadku genotypów *F. arundinacea*. Genotyp Fa-HDT akumulował w węzłach prawie wszystkie zidentyfikowane aminokwasy w większym stopniu niż genotyp Fa-LDT w warunkach suszy. Ponadto, w tej grupie roślin obserwowano także znaczną redukcję zawartości większości aminokwasów w korzeniach (**H2**). Wyjątek stanowiła prolina i ornityna, które w korzeniach były akumulowane. Ornityna, podobnie jak prolina, jest ważnym osmoregulatorem (Kalamaki i in., 2009). Ornityna i prolina mogłyby być selektywnie transportowane do korzeni, aby stabilizować gospodarkę osmotyczną w tym organie, podczas gdy inne aminokwasy były kierowane do węzłów krzewienia i służyły jako materiał zapasowy w przypadku, gdyby

roślina musiała zmierzyć się z dłuższym okresem suszy, a następnie musiałaby wytworzyć nowe pędy, dopiero po ustaniu warunków stresowych.

W przypadku węglowodanów, wcześniejsze badania wykazały, że formy introgresywne charakteryzowały się podwyższonym poziomem akumulacji metabolitów, takich jak glukoza, fruktoza i sacharoza w warunkach suszy w liściach (Perlikowski i in., 2016a), wskazując na znaczącą rolę cukrów rozpuszczalnych w tolerancji suszy. Związki te mogą być wykorzystywane w komórkach liści jako osmoprotektanty (Kido i in., 2013). Ponadto, fruktoza, glukoza, sacharoza i trehaloza były także gromadzone w korzeniach form introgresywnych, głównie INT-HDT charakteryzującej się intensywnym rozwojem korzenia (**H1**). Cukry rozpuszczalne, takie jak fruktoza lub glukoza, są głównym źródłem energii dla rosnących korzeni, a wraz z trehalozą, związki te mogą również działać jako ważne osmoregulatory w warunkach deficytu wody (Hoekstra i in., 2001; Sharp i in., 2004). Interesujące jest to, że w przypadku fruktozy nie obserwowano znaczących różnic w jej nagromadzeniu w tkance węzłów krzewienia u form introgresywnych, podczas gdy glukoza gromadzona była w dużo mniejszym stopniu niż w przypadku genotypów *F. arundinacea*. Zjawisko to sugeruje, że te metabolity były transportowane do rosnących korzeni u tych roślin, podczas gdy inne węglowodany były przechowywane w tkance węzłów jako materiały zapasowe. Z drugiej strony, u genotypów *F. arundinacea*, nagromadzenie rozpuszczalnych cukrów, takich jak fruktoza lub glukoza w korzeniach w warunkach suszy, nie zostało zaobserwowane, związki te natomiast były silnie gromadzone w tkance węzłów, zwłaszcza w przypadku genotypu Fa-HDT. Wskazuje to na istnienie istotnych różnic w strategii związanej z regulacją osmotyczną pomiędzy genotypami *F. arundinacea* oraz formami introgresywnymi. Alkohole, takie jak mio-inozytol lub galaktinol akumulowane były w węzłach krzewienia analizowanych roślin. Związki te gromadzone były również w liściach form introgresywnych (Perlikowski i in., 2016a), ale najwyższy poziom akumulacji obserwowany był w korzeniach obu grup roślin – *F. arundinacea* i form introgresywnych *Lm/Fa* (**H1**, **H2**). Może to sugerować selektywny transport tej grupy metabolitów przez tkankę węzła do korzeni. Mio-inozytol jest zaangażowany w regulację hormonalną oraz sygnalizację i odpowiedź na warunki stresowe (Zhai i in., 2016). Wiele kwasów organicznych zwiększyło akumulację w węzłach krzewienia analizowanych roślin w warunkach deficytu wody, ale zmiany te były bardziej intensywne w przypadku roślin HDT. Podobny trend obserwowano również w liściach form introgresywnych (Perlikowski i in., 2016b). Z drugiej strony, węzły nie transportowały tych związków do korzeni, ponieważ w przypadku większości kwasów organicznych nie obserwowano zmian w akumulacji w warunkach suszy w korzeniach (**H1**, **H2**). Kwasy organiczne mogą działać jako metabolity pośrednie w wielu reakcjach metabolicznych i mogą być wykorzystywane w procesach adaptacji do stresów abiotycznych (Levi i in., 2011). Tak więc, ich wyższe stężenie w węzłach w czasie deficytu wody może być związane ze zdolnością roślin do odrostu po nawodnieniu.

Tkanka węzłów krzewienia może służyć także jako miejsce magazynowania lipidów błonowych, które mogą być zaangażowane w procesie odrostu. Wcześniejsze analizy profilowania lipidów traw pastewnych kompleksu *Lolium/Festuca* wskazały na zauważalną degradację większości fosfolipidów i glikolipidów strukturalnych, zwłaszcza tych bogatych w wiązania podwójne reszt kwasów tłuszczowych, w intensywnych warunkach deficytu wody, zarówno w liściach form introgresywnych (**H3**), ale także w korzeniach form introgresywnych (**H1**) i genotypów *F. arundinacea* (**H2**). Zjawisko to było szczególnie widoczne w przypadku roślin charakteryzujących się niskim poziomem tolerancji deficytu wody i wyższym poziomem uszkodzenia błon w suszy: INT-LDT i Fa-LDT. Założono że produkty pochodzące z rozkładu lipidów mogły być dalej

przekształcone w TAG, ponieważ pula tego związku powiększyła się w tych warunkach (**H3**). Zaobserwowano znacząco wyższą ekspresję genu *DGAT2*, kodującego enzym zaangażowany w syntezę TAG (Bates i Browse, 2012), odpowiedzialny za konwersję wolnych kwasów tłuszczowych i DAG do TAG (**H3**). Obecne doświadczenie rzuca jednak więcej światła na możliwy los rozkładanych lipidów pochodzących z błon komórkowych liści i korzeni. Analiza profili akumulacji lipidów z węzłów krzewienia Fa-LDT i INT-LDT pokazała, że genotypy te gromadziły znacznie większe ilości fosfolipidów w tkance węzłów. Ponadto, nagromadzone fosfolipidy były szczególnie bogate w wielonienasycone łańcuchy tłuszczowe. Założono, że produkty degradacji błon zostały przetransportowane w postaci cząsteczek polarnych do tkanki węzłów krzewienia, aby służyć jako materiał zapasowy niezbędny do regeneracji błon komórkowych lub rozwoju nowych pędów i korzeni po ustąpieniu działania czynnika stresowego. Innym ważnym aspektem procesu modyfikacji składu lipidowego obserwowanym w tkance węzłów krzewienia analizowanych roślin była podwyższona akumulacja wielonienasyconych lipidów z grupy TAG w warunkach suszy. Zjawisko to było manifestowane jednak w nieco odmienny sposób pomiędzy analizowanymi grupami roślin. W przypadku genotypów *F. arundinacea*, lipidy TAG były akumulowane intensywniej u genotypu Fa-LDT, podczas gdy u form introgresywnych ich wyższe nagromadzenie było bardziej charakterystyczne dla genotypu INT-HDT. Podobne wyniki obserwowano wcześniej w liściach (Perlikowski i in., 2016b) i korzeniach (**H1**) tych form. Wynika z tego, że większa akumulacja TAG w warunkach deficytu wodnego jest ściśle związana z metabolizmem FFA oraz lizo-fosfolipidów będących produktem rozkładu fosfoglicerolipidów. Dane literaturowe sugerują, że półprodukty pochodzenia lipidowego gromadzone w większych ilościach w komórkach stają się wysoce toksyczne dla środowiska komórkowego z powodu procesu peroksydacji wywołanego przez nagromadzenie się RFT pod wpływem stresu (Xu i in., 2020). Zaobserwowano, że oba genotypy LDT charakteryzowały intensywnym zmiataniem FFA w węzłach krzewienia w czasie deficytu wodnego, w porównaniu z roślinami HDT. Sytuacja ta była odwrotna w odniesieniu do lizo-fosfolipidów, których zawartość w tkance znacznie wzrosła u obu genotypów LDT, a spadła u genotypów HDT. Jednakże może to być związane z intensywnym napływem tych związków z uszkodzonych komórek liści lub korzeni (**H1**, **H2**, **H3**) i ich akumulacją w formie fosfolipidów. Ponadto, nie jest wykluczone, że półprodukty pochodzenia lipidowego były wykorzystywane w celu zasilenia puli TAG, przy wykorzystaniu aktywności DGAT (Bates i Browse, 2012). Jednak mechanizm tego procesu w węzłach krzewienia nie został jeszcze opisany. W każdym razie, nie można także wykluczyć, że przynajmniej część TAG nagromadzonego w węzłach mogła zostać przetransportowana z innych części rośliny (Madey i in., 2002; Guelette i in., 2012).

Reorganizacja metabolomu i lipidomu w węzłach może także wpływać na zdolność roślin do regeneracji po zakończeniu stresu. Podczas regeneracji obserwowano kilka zjawisk związanych z modyfikacją składu metabolitów pierwotnych i lipidów w tkance węzłów. Stwierdzono m.in. znaczne zmniejszenie akumulacji większości zidentyfikowanych metabolitów pierwotnych we wszystkich analizowanych roślinach. Wcześniejsze badania wykazały, że w okresie ponownego nawadniania zwiększone nagromadzenie metabolitów pierwotnych w liściach form introgresywnych (Perlikowski i in., 2016a) nie zostało całkowicie odwrócone po zakończeniu stresu, podczas gdy w korzeniach wzrosło w porównaniu z warunkami suszy (**H1**). Reakcja ta była widoczna głównie u genotypu INT-HDT, który charakteryzował się większą zdolnością do regeneracji w warunkach polowych (Perlikowski i in., 2014). Zjawisku temu towarzyszyła także intensywna redukcja zawartości metabolitów pierwotnych w węzłach u INT-HDT. Może to wskazywać na transport metabolitów do korzeni u INT-HDT. Roślina ta charakteryzowała się wcześniej intensywną produkcją nowych korzeni po ustąpieniu

warunków stresowych (**H1**). Z drugiej strony, związki te mogą być również wykorzystywane do rozwoju nowych pędów, ponieważ obie formy introgresywne charakteryzowały się zdolnością do odrostu (**H1**). Inne zjawisko natomiast zaobserwowano u genotypów *F. arundinacea*, które również charakteryzowały się zmniejszającą ilością metabolitów pierwotnych w węzłach podczas ponownego nawadniania. Zjawisko to było bardziej intensywne u genotypu Fa-LDT, który z kolei był bardziej wrażliwy na suszę. Tak więc przechowywane metabolity mogły być wykorzystane do regeneracji pędów znacznie skuteczniej u genotypu Fa-LDT niż u Fa-HDT (**H2**). Z drugiej strony, genotypy INT-LDT i Fa-HDT, które nie pozbyły się wszystkich nagromadzonych metabolitów pierwotnych z węzłów w czasie regeneracji po stresie, mogły zabezpieczyć się w ten sposób przed kolejnym epizodem niedoboru wody. Zjawisko to mogło być związane z pamięcią stresową. Może to również mieć związek ze zmianami w profilach lipidów obserwowanymi podczas ponownego nawadniania, ponieważ rośliny LDT, które charakteryzowały się intensywnym gromadzeniem fosfolipidów błonowych w czasie suszy, utrzymywały ich podwyższony poziom również po zakończeniu stresu. Ponadto, inne lipidy zwiększyły poziom akumulacji podczas ponownego nawadniania, w tym lizo-fosfolipidy, DAG i FFA, u wszystkich analizowanych genotypów. Zjawisko to mogło być związane ze zwiększonym metabolizmem lipidów, który mógł być istotny dla dostarczenia niezbędnych substratów do podziału komórek, w celu rozwoju nowych pędów i korzeni.

Podsumowanie:

Badane genotypy *F. arundinacea* i formy introgresywne *L. multiflorum*/*F. arundinacea* o różnym poziomie tolerancji deficytu wodnego charakteryzowały się istotną reorganizacją metabolitów pierwotnych i lipidów w tkance węzłów krzewienia w warunkach stresowych i w trakcie ponownego nawadniania.

Obserwowano intensywne nagromadzenie ABA w węzłach krzewienia wszystkich badanych roślin po ponownym nawadnianiu, z równoczesnym zmniejszeniem jego zawartości w innych organach. Zjawisko to wskazuje na to, że tkanka węzłów krzewienia może być zaangażowana w magazynowanie hormonów roślinnych i pamięć stresową.

Rośliny o wyższym poziomie tolerancji suszy charakteryzowały się bardziej intensywną akumulacją metabolitów pierwotnych w węzłach w warunkach deficytu wodnego, zwłaszcza węglowodanów, które mogły być wykorzystywane jako substraty dla rosnących korzeni, jako osmoregulatory lub mogły służyć jako materiał zapasowy potrzebny do szybkiej regeneracji po ustąpieniu działania czynnika stresowego.

Rośliny o niższym poziomie tolerancji suszy charakteryzowały się stosunkowo wysokim poziomem akumulacji fosfolipidów błonowych i ich pochodnych w węzłach krzewienia w warunkach deficytu wodnego. Związki te mogły być transportowane z uszkodzonych liści i korzeni, i przechowywane jako zasoby dla szybkiej regeneracji roślin, w tym rozwoju nowych korzeni i pędów w trakcie regeneracji po ustąpieniu działania czynnika stresowego.

Wszystkie badane rośliny charakteryzowały się wysokim poziomem akumulacji TAG i obniżonym poziomem akumulacji wolnych kwasów tłuszczowych w węzłach krzewienia w warunkach stresowych. Akumulacja TAG mogła być formą magazynowania energii w komórkach oraz mogła być związana z mechanizmami ochrony komórek przeciwko lipotoksyczności wolnych kwasów tłuszczowych.

- H5** **Perlikowski D.***, Lechowicz K., Pawłowicz I., Arasimowicz-Jelonek M., Kosmala A. (2022). Scavenging of nitric oxide up-regulates photosynthesis under drought in *Festuca arundinacea* and *F. glaucescens* but reduces their drought tolerance. *Scientific Reports* 12, 6500.
- H6** **Perlikowski D.***; Lechowicz K., Blicharz S., Arasimowicz-Jelonek M., Czapiewska A., Pawłowicz I., Kosmala A (2025). Nitric oxide regulates photosynthesis and the capacity of the antioxidant system under water deficit and rehydration in *Lolium multiflorum*/*Festuca arundinacea* introgression forms. *Frontiers In Plant Science* 16: 1652482.

Wpływ tlenku azotu (NO) w przypadku reakcji roślin na warunki deficytu wody został pokazany w licznych badaniach, aczkolwiek zjawisko to nadal nie jest w pełni rozpoznane i wymaga dalszych analiz, również u traw kompleksu *Lolium-Festuca*. Skoncentrowano uwagę na tej tematyce badań w odniesieniu do *F. arundinacea* (Fa) i *F. glaucescens* (Fg) (**H5**) oraz form introgresywnych *L. multiflorum*/*F. arundinacea* (Lm/Fa) (**H6**). W badaniach wykorzystano genotypy *F. arundinacea* i *F. glaucescens* o wysokiej tolerancji suszy (HDT) i niskiej tolerancji suszy (LDT), które zostały wyselekcjonowane w trakcie prowadzenia wcześniejszych prac badawczych (Kosmala i in., 2012; Lechowicz i in., 2020a oraz **H2**) oraz wyselekcjonowane wcześniej formy introgresywne Lm/Fa również różniące się poziomem tolerancji suszy (INT-HDT i INT-LDT) (Perlikowski i in., 2014 oraz **H1**).

Głównym celem badań było rozpoznanie roli endogennego NO w tolerancji deficytu wody i regeneracji traw pastewnych po ustąpieniu warunków stresowych. Aby osiągnąć ten cel, analizowano reakcje wybranych roślin na warunki suszy i ponowne nawadnianie na poziomie fizjologicznym i molekularnym w obecności 2-fenyl-1-oksy-3-oksy-4,4,5,5-tetrametyloimidazolinu (PTIO), który jest zmiataczem endogennego NO w komórkach.

W pracy postawiono następującą hipotezę badawczą: zmiatanie endogennego NO ma istotny wpływ na procesy fizjologiczne, takie jak fotosynteza i aktywność systemu antyoksydacyjnego w warunkach niedoboru wody oraz warunkach ponownego nawodnienia i wpływa na zmiany w poziomie tolerancji deficytu wodnego oraz zdolności do regeneracji po stresie u *F. arundinacea* i *F. glaucescens* (**H5**) oraz u form introgresywnych *L. multiflorum*/*F. arundinacea* (**H6**).

Badania wykazały, że zastosowanie PTIO istotnie zmniejszyło zawartość NO w komórkach liści w okresie suszy i ponownego nawadniania u analizowanych roślin. Zauważono również, że rośliny charakteryzujące się niższym poziomem tolerancji suszy, generowały większe ilości NO w warunkach tego stresu, co mogło być związane z ich większą wrażliwością na niedobór wody. Wykazano również, że zastosowanie PTIO w warunkach suszy i ponownego nawadniania wywarło istotny wpływ na parametry fizjologii i metabolizmu analizowanych roślin. Zaobserwowano negatywny wpływ aplikacji PTIO u genotypów *F. glaucescens* na stabilność błon w odniesieniu do zmian parametru wycieku elektrolitów, co mogło wskazywać na to, że *F. glaucescens* jest bardziej wrażliwa na wahania NO, przynajmniej w odniesieniu do stabilności błon komórkowych. Zjawisko to mogło być związane z bardziej intensywnym zużyciem wody u roślin traktowanych PTIO, co wynikało z większej transpiracji i podwyższonego przewodnictwa szparkowego obserwowanego na wczesnym etapie suszy u genotypu Fa-LDT i u obu genotypach Fg. Tak więc obniżenie poziomu NO w warunkach

deficytu wody wpłynęło istotnie na funkcjonowanie aparatu szparkowego i zwiększyło poziom transpiracji u obu gatunków *Festuca*, czyniąc je bardziej podatnymi na odwodnienie, przynajmniej na wczesnym etapie suszy. Co więcej, wyższy poziom wycieku elektrolitów obserwowany po rozpoczęciu nawadniania, głównie u Fa-HDT, wskazywał na to, że zmiatanie NO mogło znacząco zmniejszyć zdolność analizowanych roślin do regeneracji po ustąpieniu warunków stresowych (H5). W przypadku badanych form introgresywnych (H6), traktowanie PTIO i wynikająca z tego niższa zawartość NO w komórkach tych roślin, nie miały istotnego wpływu na parametry RWC i EL w warunkach deficytu wodnego, odmiennie niż u *F. arundinacea* i *F. glaucescens* (H5). Aczkolwiek, uzyskane wyniki wskazują na to, że obie formy introgresywne traktowane PTIO charakteryzowały się znacząco wyższym zużyciem wody na wczesnym etapie stresu. Zjawisko to było bardziej widoczne u formy INT-LDT i prawdopodobnie było to przyczyną tego, że ta forma introgresywna była bardziej podatna na skutki odwodnienia (H6).

Tlenek azotu może być odpowiedzialny za wczesne zamknięcie aparatu szparkowego i zahamowanie procesów fotosyntezy w czasie deficytu wody. Obniżenie transpiracji spowodowane zależnym od ABA zamknięciem aparatów szparkowych jest najwcześniejszą reakcją roślin na warunki niedoboru wody. Proces ten znacznie ogranicza przewodnictwo szparkowe, aby utrzymać wysoki potencjał wody w liściach i uniknąć odwodnienia komórek (Tardieu, 2005). Jednak zmniejszenie przewodnictwa szparkowego jednocześnie ogranicza dyfuzję CO₂ do mezofilu, obniżając poziom asymilacji CO₂ i efektywność fotosyntezy (Flexas i in., 2004). Uzyskane wyniki badań wskazały, że otwarcie aparatów szparkowych u roślin *Festuca* traktowanych PTIO nie było w pełni związane z obserwowaną u nich wyższą zawartością ABA (H5). Podobne zjawisko obserwowane było u formy INT-LDT traktowanej PTIO w 14 dniu deficytu wodnego. Natomiast w przypadku formy INT-HDT zaobserwowano podobną akumulację ABA u roślin traktowanych i nietraktowanych PTIO. Z drugiej strony, aparaty szparkowe obu form introgresywnych traktowanych PTIO były mniej reaktywne 12 dnia deficytu wody w porównaniu do roślin nietraktowanych PTIO, ale 14 dnia deficytu wody przewodnictwo aparatów szparkowych było istotnie zredukowane w obu grupach roślin (H6). Podobny mechanizm został zaobserwowany w przypadku genotypów *F. glaucescens* (H5). Wynika z tego, że ABA może nie być wystarczającym czynnikiem do właściwego sygnalizowania warunków stresowych, szczególnie na wczesnych etapach suszy u badanych traw pastewnych. Wcześniejsze badania pokazały, że nagromadzenie NO jest czynnikiem koniecznym do wczesnego zamknięcia aparatów szparkowych w niekorzystnych warunkach środowiska (Lau i in., 2021). Sugeruje to, że obecność NO może być konieczna tylko na początkowym etapie działania czynnika stresowego, w celu szybkiej reakcji na zmianę warunków środowiska, a jego niedobór może znacząco zakłócać sygnalizację, prowadząc do opóźnionej odpowiedzi na warunki stresu.

Wyniki badań wykazały indukujący wpływ zmiatania NO na szybkość fotosyntezy w warunkach zarówno początkowego etapu deficytu wody, jak i po ponownym nawodnieniu zarówno w przypadku genotypów *Festuca* (H5), jak i form introgresywnych (H6). Dane literaturowe sugerują, że zahamowanie fotosyntezy, spowodowane głównie przez zamknięcie aparatów szparkowych jest zjawiskiem inicjowanym poprzez aktywność NO (Neill i in., 2002). Nie można jednak wykluczyć również istotnej roli, jaką może pełnić NO w modyfikacji aktywności enzymów zaangażowanych w fotosyntezę. Wyniki pokazały, że rośliny traktowane PTIO charakteryzowały się wyższym poziomem aktywności chloroplastowej aldolazy w suszy i po nawodnieniu, wskazując, że NO może w istocie modulować fotosyntezę również poprzez regulację cyklu Calvin.

Innym zjawiskiem obserwowanym podczas zmiatania NO u roślin traktowanych PTIO była akumulacja RFT i zmiany w aktywności enzymów systemu antyoksydacyjnego. Gromadzenie się RFT, takich jak $O_2^{\cdot-}$ i H_2O_2 , oraz zwiększenie peroksydacji lipidów w komórkach roślinnych, są głównymi zjawiskami towarzyszącymi komórkom roślinnym narażonym na działanie niekorzystnych warunków środowiska, w tym także suszy (Habib i in., 2020). Genotyp Fg-HDT po traktowaniu PTIO charakteryzował się podwyższonym poziomem MDA w warunkach suszy (**H5**). Podobne wyniki obserwowane były także w przypadku form introgresywnych traktowanych PTIO, u których obserwowany znaczny wzrost MDA po 14 dniu deficytu wodnego i na początku ponownego nawadniania w przypadku formy INT-LDT (**H6**). Wcześniejsze prace wskazały, że nadprodukcja NO znacząco poprawiła detoksykację MDA u *F. arundinacea* w czasie stresu solnego (Li i in., 2016). Zjawisko to częściowo koreluje z naszymi wynikami pokazującymi, że traktowane PTIO genotypy Fa-LDT i Fg-HDT o niższej akumulacji NO w warunkach niedoboru wody, charakteryzowały się znacznie wyższym poziomem MDA (**H5**).

Zmiatanie NO miało także negatywny, ale genotypowo-zależny wpływ na zawartość RFT u badanych roślin. Zastosowanie PTIO wywołało zwiększoną akumulację $O_2^{\cdot-}$ u genotypów Fa-LDT i Fg-HDT w warunkach suszy. Zjawisko to było również dobrze widoczne na początkowym etapie ponownego nawadniania w przypadku genotypu Fg-HDT (**H5**). Co ciekawe, w przypadku form introgresywnych obserwowaliśmy zjawisko odwrotne. Produkcja $O_2^{\cdot-}$ była indukowana w warunkach deficytu wody u form introgresywnych charakteryzujących się podwyższonym poziomem NO (**H6**). Dane literaturowe wskazują jednak na to, że deficyt NO prowadzi do indukcji akumulacji $O_2^{\cdot-}$ w warunkach stresowych (Li i in., 2016). W przypadku H_2O_2 , wzrost jego akumulacji po zastosowaniu PTIO, zaobserwowano w warunkach suszy u obu genotypów Fa-HDT i Fg-HDT. Jednak w przypadku genotypów LDT obu gatunków, zaobserwowano obniżoną zawartość H_2O_2 w tych samych warunkach. Różnice te mogą być przynajmniej częściowo związane z potencjałem systemu antyoksydacyjnego, gdyż jednocześnie zaobserwowano niższą aktywność katalazy u genotypu Fa-HDT po zastosowaniu PTIO w warunkach deficytu wodnego. Dodatkowo, po siedmiu dniach ponownego nawadniania, genotypy *F. arundinacea* traktowane PTIO nadal charakteryzowały się podwyższonym poziomem H_2O_2 . Może to wskazywać na to, że redukcja zawartości NO mogła zakłócić proces regeneracji u tego gatunku (**H5**). Podobne wyniki otrzymano dla form introgresywnych, u których obserwowano znaczną akumulację H_2O_2 w 14 dniu niedoboru wody u roślin traktowanych PTIO, najbardziej widoczne różnice w stosunku do roślin nie traktowanych PTIO obserwowane były u formy INT-HDT. Ponadto, po rozpoczęciu ponownego nawadniania, podwyższony poziom H_2O_2 nadal obserwowano w roślinach z niedoborem NO, szczególnie u formy INT-LDT (**H6**). Zjawisko to mogło być przynajmniej częściowo związane z zaburzoną aktywnością enzymów antyoksydacyjnych, obserwowaną w warunkach niedoboru NO u analizowanych roślin, ponieważ zależność ta była również dobrze widoczna we wcześniejszych eksperymentach (**H5**). Podobne wyniki wskazali również inni autorzy dla *F. arundinacea*, ale w odniesieniu do stresu solnego (Li i in., 2016).

Rośliny posiadają system usuwania RFT, obejmujący zarówno elementy enzymatyczne, jak i nieenzymatyczne, które skutecznie neutralizują nadmiar wytwarzanych RFT w komórkach (Habib i in., 2016). Zauważono pozytywny wpływ zmiatania NO na aktywność APX w przypadku obu gatunków *Festuca* (**H5**). Odmienne wyniki otrzymano dla form introgresywnych, u których obserwowano negatywny wpływ niedoboru NO na aktywność APX w suszy i po nawodnieniu (**H6**). Coraz więcej badań sugeruje, że NO może potencjalnie regulować aktywność enzymów antyoksydacyjnych poprzez modyfikację określonych aminokwasów. Nitrowanie

tyrozyny hamowało aktywność APX (Kong i in., 2016). Z drugiej strony, S-nitrozacja APX zwiększała tolerancję roślin na stres oksydacyjny (Astier i in., 2011).

Podsumowanie:

Genotypy badanych gatunków *Festuca* i formy introgresywne *Lm/Fa* o niższym poziomie tolerancji deficytu wodnego gromadziły większe ilości NO w komórkach w warunkach stresowych. Mogło to być wynikiem ich większej wrażliwości na zmieniające się warunki środowiskowe.

Po raz pierwszy u traw pastewnych zaobserwowano istotnie wyższy poziom fotosyntezy u roślin o obniżonej zawartości NO w komórkach liści w warunkach deficytu wodnego. Zjawisko to mogło być, przynajmniej częściowo, wynikiem zahamowania zamykania aparatów szparkowych wywołane niedoborem NO, obserwowanym szczególnie na wczesnym etapie suszy u obu gatunków *Festuca* oraz u form introgresywnych. Nie wykluczone jednak, że zjawisko to mogło w pewnym stopniu być również związane z wyższą aktywnością enzymów fotosyntetycznych.

Formy introgresywne o obniżonej zawartości NO charakteryzowały się istotnie wyższą asymilacją wody na wczesnym etapie deficytu wodnego; ten wzrost był szczególnie widoczny u formy INT-LDT. Zjawisko to prawdopodobnie spowodowało, że forma ta była bardziej podatna na skutki odwodnienia.

Opóźniona reakcja aparatów szparkowych na zmieniające się warunki środowiska u genotypów *F. glaucescens* przy zredukowanym poziomie NO została również zaobserwowana po rozpoczęciu ponownego nawadniania. Wskazuje to na negatywny wpływ niedoboru NO na prawidłową sygnalizację komórkową zmieniających się warunków środowiska.

Zmiananie NO z komórek badanych genotypów *Festuca* skutkowało również innymi negatywnymi efektami fizjologicznymi w warunkach stresu, w tym wyższą przepuszczalnością błon biologicznych i wyższą akumulacją RFT. Te zjawiska były także obserwowane po ponownym nawodnieniu, co wskazuje na to, że niższy poziom NO może zmniejszać nie tylko tolerancję suszy, ale także zdolność badanych roślin do regeneracji po ustąpieniu stresu.

Formy introgresywne poddane działaniu PTIO charakteryzowały się zwiększoną akumulacją H₂O₂, obniżoną aktywnością APX oraz wyższym stopniem peroksydacji lipidów, co mogło mieć negatywny wpływ na homeostazę komórkową analizowanych roślin.

4.4.3. Podsumowanie głównego osiągnięcia naukowego.

W ramach osiągnięcia naukowego przedstawiono wyniki kompleksowych analiz, w tym tych prowadzonych na poziomie fizjologiczno-molekularnym, u wybranych, ważnych traw pastewnych kompleksu *Lolium-Festuca* w warunkach deficytu wody i w trakcie regeneracji po nawodnieniu. Poznano i opisano wybrane mechanizmy reakcji badanych traw na deficyt wody, uwzględniając strategię unikania i tolerancji stresu, a także mechanizmy ich późniejszej zdolności do regeneracji po ustąpieniu działania czynnika stresowego. Badania prowadzono w oparciu o kluczowe dla funkcjonowania roślin organy – liście oraz pędy, a także węzły krzewienia i korzenie. Istotnym elementem prowadzonych badań była analiza metabolomu pierwotnego i lipidomu badanych roślin, której w niektórych przypadkach towarzyszyła analiza transkryptomu oraz proteomu. Poszczególne badania prowadzono w większości przypadków w oparciu o te same, wyselekcjonowane wcześniej rośliny, które okazały się być doskonałymi modelami do poznania wybranych mechanizmów reakcji traw pastewnych na suszę.

Na szczególną uwagę, moim zdaniem, zasługują następujące elementy osiągnięcia naukowego:

Zidentyfikowano ważne cechy morfologiczne i fizjologiczno-molekularne wybranych gatunków i mieszańców traw pastewnych kompleksu *Lolium-Festuca* związane ze strategią unikania suszy; wskazano na istotny komponent mechanizmu tej strategii - potencjał do rozwijania głębokiego systemu korzeniowego, indukowany przez zmieniające się warunki środowiska.

Wykazano istotną rolę triacyloglicerolu w mechanizmie ochrony badanych traw przed nagromadzeniem toksycznych, szczególnie wysokonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz innych lipidowych produktów w komórkach, wskazując molekularne podstawy tego procesu i jego funkcje w strategii tolerancji suszy u analizowanych traw kompleksu *Lolium-Festuca*.

Scharakteryzowano tkankę węzłów krzewienia u badanych traw pastewnych oraz wykazano jej ważną rolę w magazynowaniu hormonów roślinnych, metabolitów pierwotnych i lipidów w trakcie deficytu wodnego. Wskazano na ważne funkcje węzłów krzewienia - udział w zjawisku pamięci stresowej oraz w procesach regeneracji i rozwoju roślin po ustąpieniu warunków stresowych.

Wykazano istotną rolę tlenu azotu w sygnalizacji deficytu wody u wybranych gatunków i mieszańców traw pastewnych kompleksu *Lolium-Festuca*, szczególnie na wczesnym etapie reakcji traw na badany czynnik stresowy.

Spis cytowanej literatury.

- Astier, J., Rasul, S., Koen, E., Manzoor, H., Besson-Bard, A., Lamotte, O., et al. (2011). S-nitrosylation: An emerging post-translational protein modification in plants. *Plant Science* 181, 527–533.
- Bajji, M., Kinet, J.M. and Lutts, S. (2002). The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation* 36: 61–70.
- Bandurska, H., Jozwiak, W. (2010). A comparison of the effects of drought on proline accumulation and peroxidases activity in leaves of *Festuca rubra* L. and *Lolium perenne* L. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 79, 111–116.
- Barchet, G.L.H., Dauwe, R., Guy, R.D., Schroeder, W.R., Soolanayakanahally, R.Y., Campbell, M.M., Mansfield, S.D. (2014). Investigating the drought-stress response of hybrid poplar genotypes by metabolite profiling. *Tree Physiology* 34, 1203–1219.
- Bates, P.D., Browse, J. (2012). The significance of different diacylglycerol synthesis pathways on plant oil composition and bioengineering. *Frontiers in Plant Science* 3, 147.
- Bray, E.A., Bailey-Serres, J. and Weretilnyk, E. (2000). Responses to abiotic stresses. In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Edited by Gruissem, W., Buchanan, B. and Jones R. pp. 1158–1249. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD
- Burgos, A., Szymanski, J., Seiwert, B., Degenkolbe, T., Hannah, M.A., Giavalisco, P., et al. (2011). Analysis of short-term changes in the *Arabidopsis thaliana* glycerolipidome in response to temperature and light. *Plant Journal* 66: 656–668.
- Casaretto, E., Signorelli, S., Gallino, J. P., Vidal, S. and Borsani, O. (2021). Endogenous (NO)-N-center dot accumulation in soybean is associated with initial stomatal response to water deficit. *Physiologia Plantarum* 172, 564–576 .
- Chakrabarti, M., Nagabhyru, P., Schardl, C.L., Dinkins, R.D. (2022). Differential gene expression in tall fescue tissues in response to water deficit. *Plant Genome* 15, e20199.
- Chapman, G.P. (1998). *The biology of grasses*. New York: CAB International.
- Cohen, Z., Khozin-Goldberg, I., Adlerstein, D. and Bigogno, C. (2000). The role of triacylglycerol as a reservoir of polyunsaturated fatty acids for the rapid production of chloroplastic lipids in certain microalgae. *Biochemical Society Transactions* 28: 740–743.
- Comas, L.H., Becker, S.R., Cruz, V.V., Byrne, P.F. and Dierig, D.A. (2013). Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers Plant Science* 4: 442.
- Corpas, F. J., Del Rio, L. A. and Barroso, J. B. (2008). Post-translational modifications mediated by reactive nitrogen species: Nitrosative stress responses or components of signal transduction pathways? *Plant Signaling and Behavior* 3, 301–303.
- Degenkolbe, T., Do, P.T., Kopka, J., Zuther, E., Hinch D.K., Kohl K.I. (2013). Identification of drought tolerance markers in a diverse population of rice cultivars by expression and metabolite profiling. *PLoS One* 8, e63637.
- Dorne, A.J., Joyard, J. and Douce, R. (1990). Do thylakoids really contain phosphatidylcholine? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87, 71–74.
- Dos Reis, S.P., Lima, A.M., De Souza, C.R.B. (2012). Recent Molecular Advances on downstream plant responses to abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences* 13, 8628–8647.
- Fan, J.L., Yan, C.S. and Xu, C.C. (2013). Phospholipid: diacylglycerol acyltransferase-mediated triacylglycerol biosynthesis is crucial for protection against fatty acid-induced cell death in growing tissues of *Arabidopsis*. *Plant Journal* 76, 930–942.
- Fan, J.L., Yu, L.H. and Xu, C.C. (2017). A central role for triacylglycerol in membrane lipid breakdown, fatty acid beta-oxidation, and plant survival under extended darkness. *Plant Physiology* 174, 1517–1530.
- Fang, Y.J., Xiong, L.Z. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences* 72, 673–689.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29, 185–212.

- Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G. and Sharkey, T. D. (2004). Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C(3) plants. *Plant Biology* 6, 269–279.
- Freschi, L. (2013). Nitric oxide and phytohormone interactions: current status and perspectives. *Frontiers in Plant Science* 4.
- Gargallo-Garriga, A., Sardans, J., Perez-Trujillo, M., et al. (2014). Opposite metabolic responses of shoots and roots to drought. *Scientific Reports* 4, 6829.
- Gasulla, F., vom Dorp, K., Dombrink, I., Zahringer, U., Gisch, N., Dormann, P., Bartels, D. (2013). The role of lipid metabolism in the acquisition of desiccation tolerance in *Craterostigma plantagineum*: a comparative approach. *The Plant Journal* 75, 726–741.
- Gigon, A., Matos, A.R., Laffray, D., Zuily-Fodil, Y. and Pham-Thi, A.T. (2004). Effect of drought stress on lipid metabolism in the leaves of *Arabidopsis thaliana* (ecotype Columbia). *Annals of Botany* 94, 345–351.
- Giuliani, S., Sanguineti, M.C., Tuberosa, R., Bellotti, M., Salvi, S. and Landi, P. (2005). Root-ABA1, a major constitutive QTL, affects maize root architecture and leaf ABA concentration at different water regimes. *Journal of Experimental Botany* 56, 3061–3070.
- Golldack, D., Li, C., Mohan, H., Probst, N. (2014). Tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. *Frontiers in Plant Science* 5, 151.
- Guelette, B.S., Benning, U.F., Hoffmann-Benning, S. (2012). Identification of lipids and lipid-binding proteins in phloem exudates from *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany* 63, 3603–3616.
- Habib, N. et al. (2016). Nitric oxide regulated improvement in growth and yield of rice plants grown under salinity stress: Antioxidant defense system. *Applied Ecology and Environmental Research* 14, 91–105.
- Habib, N., Ali, Q., Ali, S., Javed, M. T., Haider, M. Z., Perveen, R., et al. (2020). Use of Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide for Better Yield of Wheat (*Triticum aestivum* L.) under Water Deficit Conditions: Growth, Osmoregulation, and Antioxidative Defense Mechanism. *Plants-Basel* 9 (2), 285.
- Heidarvand, L., Maali-Amiri, M. (2010). What happens in plant molecular responses to cold stress? *Acta Physiologiae Plantarum* 32, 419–431.
- Hildebrandt, T.M., Nesi, A.N., Araujo, W.L., Braun, H.P. (2015). Amino acid catabolism in plants. *Molecular Plant* 8, 1563–1579.
- Hoekstra, F.A., Golovina, E.A., Buitink, J. (2001). Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science* 6, 431–438.
- Huang, H. L., Ullah, F., Zhou, D. X., Yi, M. and Zhao, Y. (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science* 10, 800.
- Humphreys, M.W., Thomas, H.M., Morgan, W.G., Meredith, M.R., Harper, J.A., Thomas, H., Zwierzykowski, Z., Ghesquière, M. (1995). Discriminating the ancestral progenitors of hexaploid *Festuca arundinacea* using genomic in situ hybridization. *Heredity* 75, 171–174.
- Humphreys, M.W., Thomas, H.M., Harper, J., Morgan, G., James, A., Ghamari-Zare, A., Thomas, H. (1997). Dissecting drought-and cold-tolerance traits in the *Lolium-Festuca* complex by introgression mapping. *New Phytologist* 137, 55–60.
- Humphreys, J., Harper, J.A., Armstead, I.P., Humphreys, M.W. (2005). Introgression-mapping of genes for drought resistance transferred from *Festuca arundinacea* var. *glaucescens* into *Lolium multiflorum*. *Theoretical and Applied Genetics* 110, 579–587.
- Humphreys, M.W., Thomas, H. (1993). Improved drought resistance in introgression lines derived from *Lolium-Multiflorum* × *Festuca-Arundinacea* hybrids. *Plant Breeding* 111, 155–161.
- Ingle, R.A., Collett, H., Cooper, K., Takahashi, Y., Farrant, J.M. and Illing, N. (2008). Chloroplast biogenesis during rehydration of the resurrection plant *Xerophyta humilis*: parallels to the etioplast–chloroplast transition. *Plant and Cell Environment* 31, 1813–1824.
- Islam, T., Manna, M. and Reddy, M.K. (2015). Glutathione Peroxidase of *Pennisetum glaucum* (PgGPx) is a functional Cd²⁺ dependent peroxiredoxin that enhances tolerance against salinity and drought stress. *PLoS One* 10: e0143344.
- Jouhnet, J. (2013). Importance of the hexagonal lipid phase in biological membrane organization. *Frontiers in Plant Science* 4, 494.

- Kalamaki, M.S., Merkouropoulos, G. and Kanellis, A.K. (2009). Can ornithine accumulation modulate abiotic stress tolerance in *Arabidopsis*? *Plant Signaling and Behavior* 4, 1099–1101.
- Kang, S.Z. and Zhang, J.H. (2004). Controlled alternate partial root-zone irrigation: its physiological consequences and impact on water use efficiency. *Journal of Experimental Botany* 55, 2437–2446.
- Kang, Z.Y., Babar, M.A., Khan, N., Guo J., Khan, J., Islam, S., Shrestha, S., Shahi, D. (2019). Comparative metabolomic profiling in the roots and leaves in contrasting genotypes reveals complex mechanisms involved in postanthesis drought tolerance in wheat. *PLoS One* 14, e0213502.
- Kaup, M.T., Froese, C.D. and Thompson, J.E. (2002). A role for diacylglycerol acyltransferase during leaf senescence. *Plant Physiology* 129: 1616–1626.
- Kavar, T., Maras, M., Kidric, M., Sustar-Vozlic, J. and Meglic, V. (2008). Identification of genes involved in the response of leaves of *Phaseolus vulgaris* to drought stress. *Molecular Breeding* 21, 159–172.
- Kern, J., Zouni, A., Guskov, A. and Krauss, N. (2009). Lipids in the structure of photosystem I, photosystem II and the cytochrome b6f complex. In *Lipids in Photosynthesis: Essential and Regulatory Functions*. Edited by Wada, H.M. and Murata, N. pp. 203–242. Springer, Berlin/Heidelberg.
- Kido, E.A., Neto, J.R.C.F., Silva, R.L.O., Belarmino, L.C., Neto, J.P.B., Soares Cavalcanti, N.M., Pandolfi, V., Silva, M.D., Nepomuceno, A.L., Benko Iseppon, A.M. (2013). Expression dynamics and genome distribution of osmoprotectants in soybean: identifying important components to face abiotic stress. *BMC Bioinformatics* 14, S7.
- Kosmala, A., Perlikowski, D., Pawłowicz, I. and Rapacz, M. (2012). Changes in the chloroplast proteome following water deficit and subsequent watering in a high- and a low-drought-tolerant genotype of *Festuca arundinacea*. *Journal of Experimental Botany* 63, 6161–6172.
- Krasensky, J., Jonak, C. (2012). Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany* 63, 1593–1608.
- Lau, S. E., Hamdan, M. F., Pua, T. L., Saidi, N. B. and Tan, B. C. (2021). Plant nitric oxide signaling under drought stress. *Plants -Basel* 10, 360,
- Lechowicz, K., Pawłowicz, I., Perlikowski, D., Arasimowicz-Jelonek, M., Majka, J., Augustyniak, A., Rapacz, M., Kosmala, A. (2020a). Two *Festuca* species—*F. arundinacea* and *F. glaucescens*—differ in the molecular response to drought, while their physiological response is similar. *International Journal of Molecular Sciences* 21, 3174.
- Lechowicz, K., Pawłowicz, I., Perlikowski, D., Arasimowicz-Jelonek, M., Blicharz, S., Skirycz, A., et al. (2020b). Adjustment of photosynthetic and antioxidant activities to water deficit is crucial in the drought tolerance of *Lolium multiflorum*/*Festuca arundinacea* introgression forms. *International Journal of Molecular Sciences* 21, 5639.
- Leon, J., Castillo, M. C., Coego, A., Lozano-Juste, J. and Mir, R. (2014). Diverse functional interactions between nitric oxide and abscisic acid in plant development and responses to stress. *Journal of Experimental Botany* 65, 907–921.
- Levi, A., Paterson, A.H., Cakmak, I., Saranga, Y. (2011). Metabolite and mineral analyses of cotton near-isogenic lines introgressed with QTLs for productivity and drought-related traits. *Physiologia Plantarum* 141, 265–275.
- Li, Z. and Vance, D.E. (2008). Phosphatidylcholine and choline homeostasis. *Journal of Lipid Research* 49, 1187–1194.
- Li, Y. F., Gao, L. M., and Han, R. (2016). Endogenous nitric oxide mediates He-Ne laser-induced adaptive responses in salt stressed-tall fescue leaves. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 80, 1887–1897.
- Li-Beisson, Y. and Carriere, F. (2020). Biogenesis and fate of lipid droplets. *Biochimie* 169, 1–2.
- Lilley, J.M., Kirkegaard, J.A. (2011). Benefits of increased soil exploration by wheat roots, *Field Crop Research* 122, 118–130.
- Luo, L.J. (2010). Breeding for water-saving and drought-resistance rice (WDR) in China. *Journal of Experimental Botany* 61, 3509–3517.
- Madey, E., Nowack, L.M., Thompson, J.E. (2002). Isolation and characterization of lipid in phloem sap of canola. *Planta* 214, 625–634.
- McCue, K.F., Hanson, A.D. (1990). Drought and salt tolerance—towards understanding and application. *Trends in Biotechnology* 8, 358–362.

- Moellering, E.R. and Benning, C. (2011). Galactoglycerolipid metabolism under stress, a time for remodeling. *Trends in Plant Science* 16, 98–107.
- Morgan, J.M. (1984). Osmoregulation and water-stress in higher-plants. *Annual Review of Plant Biology* 35, 299–319.
- Nardini, A., Salleo, S., Tyree, M.T. (2002). Ecological aspects of water permeability of roots, in: Y. Waisel, A. Eshel, U. Kafkafi (Eds.), *The Hidden Half*, 3rd edition, Marcel Dekker Inc, New York, Basel, pp. 683–698.
- Neill, S. J., Desikan, R., Clarke, A., and Hancock, J. T. (2002). Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiology* 128, 13–16.
- Pei, Z. M. et al. (2000). Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature* 406, 731–734.
- Pereyra, M.A., Zalazar, C.A. and Barassi, C.A. (2006). Root phospholipids in *Azospirillum*-inoculated wheat seedlings exposed to water stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 44, 873–879.
- Perlikowski, D., Czyżniewski, M., Marczak, L., Augustyniak, A., and Kosmala, A. (2016a). Water Deficit Affects Primary Metabolism Differently in Two *Lolium multiflorum*/*Festuca arundinacea* Introgression Forms with a Distinct Capacity for Photosynthesis and Membrane Regeneration. *Frontiers in Plant Science* 7, 1063.
- Perlikowski, D., Kierszniowska, S., Sawikowska, A., Krajewski, P., Rapacz, M., Eckhardt, A., et al. (2016b). Remodeling of Leaf Cellular Glycerolipid Composition under Drought and Re-hydration Conditions in Grasses from the *Lolium-Festuca* Complex. *Frontiers in Plant Science* 7, 1027.
- Perlikowski, D., Kosmala, A., Rapacz, M., Koscielniak, J., Pawłowicz, I., and Zwierzykowski, Z. (2014). Influence of short-term drought conditions and subsequent re-watering on the physiology and proteome of *Lolium multiflorum*/*Festuca arundinacea* introgression forms, with contrasting levels of tolerance to longterm drought. *Plant Biology (Stuttg.)* 16, 385–394.
- Pomortsev, A., Dorofeev, N., Sokolova, L., Zorina, S., Katysheva, N. (2018). Physiological and biochemical response of winter triticale crowns at different soil moisture levels. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 21, 387–393.
- Rybka, Z. (1994). Morphology of crown—the overwintering organ of winterwheat seedling. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 63, 101–101.
- Sanchez-Martin, J., Canales, F.J., Tweed, J.K.S., Lee, M.R.F., Rubiales, D., Gomez-Cadenas, A., et al. (2018). Fatty acid profile changes during gradual soil water depletion in oats suggests a role for jasmonates in coping with drought. *Frontiers in Plant Science* 9, 1077.
- Schachtman, D.P. and Goodger, J.Q.D. (2008). Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends in Plant Science* 13, 281–287.
- Serraj, R. and Sinclair, T.R. (2002). Osmolyte accumulation, can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant and Cell Environment* 25, 333–341.
- Sharp, R.E., Poroyko, V., Hejlek, L.G., Spollen, W.G., Springer, G.K., Bohnert, H.J., Nguyen, H.T. (2004). Root growth maintenance during water deficits, physiology to functional genomics. *Journal of Experimental Botany* 55, 2343–2351.
- Shimakawa, G., Ifuku, K., Suzuki, Y., Makino, A., Ishizaki, K., Fukayama, H., et al. (2018). Responses of the chloroplast glyoxalase system to high CO₂ concentrations. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 82, 2072–2083.
- Siopongco, J.D.L.C., Sekiya, K., Yamauchi, A., Egdane, J., Ismail, A.M. and Wade, L.J. (2008). Stomatal responses in rainfed lowland rice to partial soil drying; evidence for root signals. *Plant Production Science* 11, 28–41.
- Tan, W.J., Yang, Y.C., Zhou, Y., Huang, L.P., Xu, L., Chen, Q.F., et al. (2018). Diacylglycerol acetyltransferase and diacylglycerol kinase modulate triacylglycerol and phosphatidic acid production in the plant response to freezing stress. *Plant Physiology* 177, 1303–1318.
- Tanino, K.K., McKersie, B.D. (1985). Injury within the crown of winter-wheat seedlings after freezing and icing stress. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 63, 432–436.
- Tardieu, F. (2005). Plant tolerance to water deficit, physical limits and possibilities for progress. *Comptes Rendus. Géoscience* 337, 57–67.

- Thomas, H., Humphreys, M.O. (1991). Progress and potential of interspecific hybrids of *Lolium* and *Festuca*. *Journal of Agricultural Science* 117, 1–8.
- Ullah, N., Yuce, M., Gokce, Z.N.O., Budak, H. (2017). Comparative metabolite profiling of drought stress in roots and leaves of seven *Triticeae* species. *BMC Genomics* 18, 969.
- Vernotte, C., Soli, S.C., Moya, I., Maison, B., Briantais, J.M., Arrio, B., et al. (1983). Multiple effects of linolenic acid addition to pea thylakoids. *Biochimica et Biophysica Acta* 725, 376–383.
- Verslues, P.E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J. and Zhu, J.K. (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *Plant Journal* 45, 523–539.
- Wang, Y., Zhang, J., Li, J. L. and Ma, X. R. (2014). Exogenous hydrogen peroxide enhanced the thermotolerance of *Festuca arundinacea* and *Lolium perenne* by increasing the antioxidative capacity. *Acta Physiologiae Plantarum* 36, 2915–2924.
- Wang, X. et al. (2021). Crosstalk between hydrogen peroxide and nitric oxide mediates priming-induced drought tolerance in wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science* 207, 224–235.
- Wehmeyer, N. and Vierling, E. (2000). The expression of small heat shock proteins in seeds responds to discrete developmental signals and suggests a general protective role in desiccation tolerance. *Plant Physiology* 122, 1099–1108.
- Welti, R., Li, W., Li, M., Sang, Y., Biesiada, H., Zhou, H.E., et al. (2002). Profiling membrane lipids in plant stress responses. Role of phospholipase D alpha in freezing-induced lipid changes in *Arabidopsis*. *Journal of Biological Chemistry* 277, 31994–32002.
- Wen, W.W., Li, K., Alseekh, S., et al. (2015). Genetic determinants of the network of primary metabolism and their relationships to plant performance in a maize recombinant inbred line population. *The Plant Cell* 27, 1839–1856.
- Wolfe, J., Bryant, G. (1999). Freezing, drying, and/or vitrification of membrane–solute–water systems. *Cryobiology* 39, 103–129.
- Xing, H., Tan, L. L., An, L. H., Zhao, Z. G., Wang, S. M., and Zhang, C. L. (2004). Evidence for the involvement of nitric oxide and reactive oxygen species in osmotic stress tolerance of wheat seedlings, Inverse correlation between leaf abscisic acid accumulation and leaf water loss. *Plant Growth Regulation* 42, 61–68.
- Xiong, L. and Zhu, J.K. (2002). Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant Cell and Environment* 25, 131–139.
- Xoconostle-Cazares, B., Ramirez-Ortega, F.A., Flores-Elenes, L., RuizMedrano, R. (2010). Drought tolerance in crop plants. *American Journal of Plant Physiology* 5, 241–256.
- Xu, C., Fan, J. and Shanklin, J. (2020). Metabolic and functional connections between cytoplasmic and chloroplast triacylglycerol storage. *Progress in Lipid Research* 80, 101069.
- Yancey, P.H., Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *Journal of Experimental Biology* 208, 2819–2830, 2005.
- Yu, B., Li, W., (2014). Comparative profiling of membrane lipids during water stress in *Thellungiella salsuginea* and its relative *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry* 108, 77–86.
- Zhai H., Wang F.B., Si Z.Z., Huo J.X., Xing L., An Y.Y., He S.Z., Liu Q.C. (2016). A myo-inositol-1- phosphate synthase gene, IbMIPS1, enhances salt and drought tolerance and stem nematode resistance in transgenic sweet potato. *Plant Biotechnology Journal* 14, 592–602.

4.5. Pozostałe osiągnięcia naukowe przedstawiono w artykułach wymienionych w punkcie 4.2. załącznika
4. Spośród nich za najbardziej istotne uważam:

4.5.1 Poznanie roli białek chloroplastowych w tolerancji suszy u kostrzewy trzcinowej (*Festuca arundinacea*).

W ramach badań prowadzonych na gatunku *F. arundinacea* w celu identyfikacji fizjologiczno-molekularnych podstaw tolerancji deficytu wodnego wyselekcjonowano dwa genotypy – genotyp Fa-45 o stosunkowo wysokim potencjale tolerancji na krótkotrwałą suszę oraz genotyp Fa-60 o stosunkowo niskim potencjale tolerancji. Genotypy te zostały wykorzystane w badaniach koncentrujących się na poznaniu zmian w proteomie chloroplastowym *F. arundinacea* podczas deficytu wody i ponownego nawodnienia. W badaniach wykorzystano m.in.: elektroforezę dwukierunkową (2-D), w celu profilowania akumulacji białek chloroplastowych w warunkach deficytu wody i po ponownym nawodnieniu, oraz spektrometrię mas, w celu identyfikacji białek o różnym poziomie akumulacji. Analizy proteomiczne wykazały różnice w profilach akumulacji 10 białek chloroplastowych w warunkach deficytu wody i po powtórnym nawodnieniu pomiędzy dwoma badanymi genotypami. Wszystkie zidentyfikowane białka były zaangażowane bezpośrednio w reakcje fotosyntetyczne lub w ochronę aparatu fotosyntetycznego przed skutkami deficytu wody. Pośród zidentyfikowanych białek były m. in. metaloproteaza FtsH2, cyklofilina CYP 38, fibrylina oraz lipokalina, które mogą mieć kluczowe znaczenie w regulacji poziomu tolerancji suszy u *F. arundinacea*.

Kosmala A., **Perlikowski D.**, Pawłowicz I., Rapacz M. (2012). Changes in the chloroplast proteome following water deficit and subsequent watering in a high and a low drought tolerant genotype of *Festuca arundinacea*. *Journal of Experimental Botany* 63: 6161-6172. DOI: 10.1093/jxb/ers265.

IF₂₀₁₂ = 5,242

Mój wkład w przygotowanie publikacji obejmował: zmodyfikowanie metody izolacji chloroplastów oraz ich izolację z liści traw kostrzewy trzcinowej, przeprowadzenie ekstrakcji białek z frakcji chloroplastowej oraz sporządzenie mapy 2-D proteomu chloroplastowego, analizę poziomu akumulacji markerowego białka UGPazy dla frakcji chloroplastowej i cytoplazmatycznej, udział w interpretacji wyników oraz sformułowaniu wniosków płynących z przeprowadzonych badań.

4.5.2. Poznanie molekularnych podstaw porastania u żyta (*Secale cereale*).

Porastanie jest głównym czynnikiem negatywnie wpływającym na jakość plonów w okresie dojrzewania ziarna zachodzącego w warunkach charakteryzujących się intensywnymi opadami deszczu, które powodują przedwczesne kielkowanie ziarna w kłosach. Badanie tego zjawiska jest dość trudne, ponieważ porastanie to złożona cecha w dużej mierze zależna od warunków pogodowych. W badaniach wykorzystano dwie linie żyta *Secale cereale* różniące się podatnością na porastanie. Badania oparte były przede wszystkim na elektroforezie dwukierunkowej oraz spektrometrii mas wykorzystanych w celu identyfikacji białek różnicujących wybrane linie żyta. Uzyskane wyniki wskazały szereg potencjalnych białek, które mogły być zaangażowane w zjawisko porastania. Lista różnicujących białek zawiera m. in. serpine, białko szoku cieplnego HSP70, inhibitory alfa-amylazy, białka przeciwdrobnoustrojowe, peroksyredoksynę, inhibitor ksylanazy oraz białka wiążące RNA. Dla części zidentyfikowanych białek w ziarnie żyta wykazano wcześniej związek z porastaniem u pszenicy i ryżu, co

sugeruje, że niektóre mechanizmy wpływające na przedwczesne kiełkowanie mogą być wspólne dla różnych gatunków zbóż. Badania prowadzone były w ramach współpracy z Katedrą Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin, Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie.

Masojć P., Kosmala A., **Perlikowski D.** (2013). Proteomic analysis of developing rye grain with contrasting resistance to preharvest sprouting. *Journal of Applied Genetics* 54: 11-19. DOI: 10.1007/s13353-012-0127-8.

IF₂₀₁₃ = 1,902

Mój wkład w przygotowanie publikacji obejmował: ekstrakcję białek z ziarna żyta oraz sporządzenie map 2-D proteomu.

4.5.3. Poznanie molekularnych podstaw męskiej sterility u czosnku (*Allium sativum*).

Komercyjne odmiany czosnku *Allium sativum* są sterylne, co utrudnia ich hodowlę. Jednak niedawne badania nad przywróceniem płodności tej rośliny umożliwiły jej hybrydyzację i otworzyły drogę do poznania mechanizmów stojących za zjawiskiem męskiej sterility. Badania morfo-fizjologiczne, w połączeniu z analizami transkryptomu umożliwiły identyfikację genów zaangażowanych w gametogenezę u płodnych i męskosterylnych genotypów czosnku. Oba genotypy wykazały prawidłową mejozę na wczesnych stadiach rozwoju pylników, ale u roślin męskosterylnych hipertrofia tapetum po uwolnieniu mikrospor prowadziła do degeneracji pyłku. Analiza transkryptomu wykazała, że ponad 16 000 genów ulegało zróżnicowanej ekspresji w rozwijających się kwiatach płodnych i męskosterylnych. W celu lepszego poznania tego procesu i zawężenia potencjalnych czynników warunkujących to zjawisko przeprowadzono analizę proteomu i ilościowe porównanie białek na mapach 2D. Identyfikacja białek przy użyciu spektrometrii masowej ujawniła 36 istotnie różnicujących białek, z których dziewięć występowało wyłącznie w genotypie męskosterylnym. Porównanie cech morfo-fizjologicznych i molekularnych kwiatów płodnych i męskosterylnych czosnku sugerowało, że zmiany w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym oraz zaburzenia w regulacji programowanej śmierci komórek tapetum mogą prowadzić do niedoboru energii i w konsekwencji do upośledzenia ziaren pyłku. Zaproponowano potencjalne markery molekularne męskiej płodności i sterility czosnku. Badania prowadzone były w ramach współpracy z Agricultural Research Organization, The Volcani Center, Institute of Plant Science Bet Dagan w Izraelu.

Shemesh-Mayer E., Ben-Michael T., Rotem N., Rabinowitch H.D., Doron-Faigenboim A., Kosmala A., **Perlikowski D.**, Sherman A., Kamenetsky R.* (2015). Garlic (*Allium sativum* L.) fertility: transcriptome and proteome analyses provide insight into flower and pollen development. *Frontiers in Plant Science* 6:271. DOI: 10.3389/fpls.2015.00271.

IF₂₀₁₅ = 4,495

Mój wkład w przygotowanie publikacji obejmował: ekstrakcję białek z pyłku czosnku oraz sporządzenie map 2-D proteomu oraz udział w selekcji białek do identyfikacji.

4.5.4. Poznanie molekularnych podstaw odporności żyta (*Secale cereale*), pszenicy (*Triticum aestivum*) i pszenżyta (*Triticale*) na fuzariozę kłosów.

Fuzarioza kłosów jest chorobę grzybową redukującą w znaczny sposób wielkość i jakość plonu tych zbóż. W wyniku prowadzonych prac, zidentyfikowano białka dojrzałego ziarna kluczowe dla wykształcenia odporności na *Fusarium culmorum*. W badaniach wykorzystano m.in.: elektroforezę dwukierunkową (2-D), w celu profilowania akumulacji białek ziarna po inokulacji i w warunkach kontrolnych oraz spektrometrię mas, w celu identyfikacji białek o różnym poziomie akumulacji między badanymi rodami pszenicy oraz odmianami pszenżyta i żyta, różniącymi się poziomem odporności na chorobę. Uzyskane wyniki pozwoliły m. in. na scharakteryzowanie czynnego udziału enzymów alfa i beta amylazy w zjawisku odporności badanych zbóż na fuzariozę kłosów. Prace badawcze wykonywane były w ramach współpracy z Zakładem Genomiki IGR PAN oraz z Instytutem Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB.

Perlikowski D., Wiśniewska H., Góral T., Ochodzki P., Majka M., Pawłowicz I., Belter J., Kosmala A.* (2019).

Identification of Proteomic Components Associated with Resistance to Fusarium Head Blight in Rye. *The Plant Pathology Journal* 35: 313-320. DOI: 10.5423/PPJ.OA.11.2018.0278.

IF₂₀₁₉ = 1,570

Perlikowski D., Wiśniewska H., Kaczmarek J., Góral T., Ochodzki P., Kwiatek M., Majka M., Augustyniak A., Kosmala A.* (2016). Alterations in Kernel Proteome after Infection with *Fusarium culmorum* in Two Triticale Cultivars with Contrasting Resistance to *Fusarium* Head Blight. *Frontiers in Plant Science* 7:1217. DOI: 10.3389/fpls.2016.01217.

IF₂₀₁₆ = 4,291

Perlikowski D., Wiśniewska H., Góral T., Kwiatek M., Majka M., Kosmala A.* (2014). "Identification of kernel proteins associated with the resistance to Fusarium head blight in winter wheat (*Triticum aestivum* L.)". *Plos One* 9(10): e110822. DOI:10.1371/journal.pone.0110822.

IF₂₀₁₄ = 3,234

Mój wkład w przygotowanie ww. publikacji obejmował: ekstrakcję białek oraz wykonanie map 2-D proteomu ziarna pszenicy, analizę akumulacji białek na podstawie sporządzonych map białkowych oraz wyselekcjonowanie białek do identyfikacji, pomiary aktywności alfa i beta amylazy w ziarnie pszenicy, analizę statystyczną akumulacji białek i aktywności alfa i beta amylazy, opracowanie wyników badań pod kątem sposobu ich prezentacji w publikacji, udział w interpretacji wyników oraz sformułowaniu wniosków płynących z przeprowadzonych badań, udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu oraz opracowanie figur prezentowanych w publikacji.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

5.1. Aktywność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora (do 2016r.).

5.1.1. Aktywność naukowa związana z przygotowaniem rozprawy doktorskiej.

Prace badawcze w Instytucie Genetyki Roślin PAN rozpocząłem w 2011 roku, będąc formalnie doktorantem Studium Doktoranckiego prowadzonego przy Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN. Praca doktorska realizowana była w Zakładzie Biologii Stresów Środowiskowych IGR PAN. Jej tematyka koncentrowała się na poznaniu reakcji traw pastewnych na zmienne warunki środowiska, ze szczególnym uwzględnieniem deficytu wody w podłożu. W ramach realizacji pracy doktorskiej nawiązałem współpracę z prof. Marcinem Rapaczem z Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie (Katedra Fizjologii Roślin), w ramach której odbyłem dwutygodniowy staż naukowy, którego celem było szkolenie z zakresu analizy parametrów fizjologicznych roślin. W trakcie realizacji pracy doktorskiej nawiązałem także współpracę z prof. Lotharem Willmitzerem z Instytutu Maxa Plancka w Poczdamie oraz z dr Sylwią Kierszniowską z tego ośrodka, którzy umożliwili mi przeprowadzenie analizy lipidomu liści materiałów roślinnych wykorzystywanych przeze mnie w badaniach. Pracę doktorską pt. „Fizjologiczne i molekularne podstawy tolerancji deficytu wody u form introgresywnych życicy wielokwiatowej (*Lolium multiflorum* Lam.) i kostrzewy trzcinowej (*Festuca arundinacea* Schreb.) obroniłem w Instytucie Genetyki Roślin PAN w Poznaniu pod kierunkiem dr. hab. Arkadiusza Kosmali. Stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie agronomii uzyskałem uchwałą Rady Naukowej Instytutu Genetyki Roślin PAN dnia 14 grudnia 2016 r.

Staż naukowy:

Termin: 23 kwietnia – 4 maja 2012 (dwutygodniowy pobyt)

Miejsce: **Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Katedra Fizjologii Roślin**

Opiekun naukowy: prof. Marcin Rapacz

Temat: Analizy parametrów fizjologicznych traw pastewnych z rodzaju *Lolium* i *Festuca* w warunkach kontrolowanej suszy.

Efekty:

Perlikowski D., Kosmala A., Rapacz M., Kościelniak J., Pawłowicz I., Zwierzykowski Z. (2014). *Plant Biology* 16: 385–394. DOI: 10.1111/plb.12074.

Staż naukowy:

Termin: 5 - 9 maja 2014 (tygodniowy pobyt)

Miejsce: **Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Poczdam, Niemcy**

Opiekuni naukowcy: prof. Lothar Willmitzer i dr Sylwia Kierszniowska

Temat: Analiza ilościowa i jakościowa lipidów błonowych u traw kompleksu *Lolium-Festuca* w warunkach stresu deficytu wody; wykonanie identyfikacji ilościowej i jakościowej glicerolipidów liści traw z kompleksu *Lolium-Festuca*, przy wykorzystaniu spektrometrii mas sprzężonej z chromatografią ciekłą.

Efekty:

Perlikowski D., Kierszniowska S., Sawikowska A., Krajewski P., Rapacz M., Eckhardt Ä., Kosmala A. (2016). *Frontiers in Plant Science* 7:1027. DOI: 10.3389/fpls.2016.01027.

5.1.2. Aktywność naukowa związana z badaniem architektury i metabolizmu korzeni traw pastewnych w odniesieniu do zdolności unikania suszy.

W trakcie realizacji pracy doktorskiej zostałem kierownikiem własnego projektu badawczego Preludium finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki pt.: „Analiza wybranych komponentów architektury systemu korzeniowego i metabolizmu korzenia w odniesieniu do tolerancji deficytu wodnego u traw kompleksu *Lolium-Festuca*”, nr 2014/13/N/NZ9/00914, celem którego było poznanie wybranych elementów reakcji traw pastewnych na stres deficytu wodnego w podłożu w oparciu o charakterystykę architektury systemu korzeniowego oraz analizę akumulacji białek, metabolitów pierwotnych, glicerolipidów i hormonów roślinnych w korzeniach traw pastewnych kompleksu *Lolium-Festuca*. Zakres badań prowadzonych w projekcie był inny niż tematyka rozprawy doktorskiej i był realizowany równolegle z badaniami przedstawionymi w rozprawie doktorskiej. W ramach tych badań kontynuowałem swoją współpracę z Instytutem Maxa Plancka w Poczdamie, przede wszystkim z dr Aleksandrą Skirycz, w tematyce związanej z analizą akumulacji lipidów oraz metabolitów pierwotnych w korzeniach badanych traw pastewnych. Przed uzyskaniem projektu, odbyłem tygodniowy staż w Instytucie National de la Recherche Agronomique (INRA) w Lusignan pod opieką prof. Marca Ghesquiere’a, który zainspirował mnie do napisania i złożenia projektu Preludium.

Staż naukowy:

Termin: 13-19 kwietnia 2013 (tygodniowy pobyt)

Miejsce: **Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Unite de Recherche Pluridisciplinaire Prairies et Plantes Fourrageres, Lusignan, Francja**

Opiekun naukowy: prof. Marc Ghesquiere

Temat: Poprawianie tolerancji traw pastewnych na stresy abiotyczne oraz badanie fizjologicznych i molekularnych podstaw tej tolerancji. Szkolenie w zakresie analizy fizjologii i metabolizmu korzeni traw kompleksu *Lolium-Festuca*.

Efekty: przygotowanie projektu Preludium finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki pt.: „Analiza wybranych komponentów architektury systemu korzeniowego i metabolizmu korzenia w odniesieniu do tolerancji deficytu wodnego u traw kompleksu *Lolium-Festuca*”, nr 2014/13/N/NZ9/00914, realizowanego w latach 2014 - 2016.

Staż naukowy:

Termin: 31 października – 11 listopada 2016 (dwutygodniowy pobyt)

Miejsce: **Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Poczdam, Niemcy**

Opiekunowie naukowcy: prof. Lothar Willmitzer, dr Aleksandra Skirycz

Temat: Identyfikacja ilościowa i jakościowa glicerolipidów i metabolitów pierwotnych wyizolowanych z korzeni traw kompleksu *Lolium-Festuca*, przy wykorzystaniu spektrometrii mas sprzężonej z chromatografią cieczową i gazową. Wyjazd odbył się w ramach realizacji projektu NCN PRELUDIUM 7 „Analiza wybranych komponentów architektury systemu korzeniowego i metabolizmu korzenia w odniesieniu do tolerancji deficytu wodnego u traw kompleksu *Lolium- Festuca*”, nr 2014/13/N/NZ9/00914, którego byłem kierownikiem.

Efekty:

(H1) Perlikowski D.*, Augustyniak A., Masajada K., Skirycz A., Soja A. M., Michaelis Ä., Wolter G., Kosmala A. (2019). *Plant Science* 283: 211-223. DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.02.001.

(H2) Perlikowski D.*, Augustyniak A., Skirycz A., Pawłowicz I., Masajada K., Michaelis Ä., Kosmala A. (2020). *Plant and Cell Physiology* 61: 492-504. DOI:10.1093/pcp/pcz215.

5.1.3. Aktywność naukowa związana z poznaniem technologii transformacji i regeneracji traw pastewnych.

Celem wprowadzenia do prac naszego zespołu technologii związanej z transformacją traw, umożliwiającej prowadzenie analiz funkcjonalnych genów kluczowych w tolerancji stresów abiotycznych, nawiązano współpracę z prof. Tadashim Takamizo z National Institute of Livestock and Grassland Science w Nishinasuno w Japonii, którego zespół naukowy specjalizował się w tych technikach.

Staż naukowy:

Termin: 1 – 30 października 2015 (miesięczny pobyt)

Miejsce: **National Institute of Livestock and Grassland Science, Nishinasuno, Japonia**

Opiekun naukowy: prof. Tadashi Takamizo

Temat: Zapoznanie się z technologią transformacji traw pastewnych z rodzaju *Lolium* i *Festuca* oraz zawiązanie współpracy mającej na celu uzyskanie transgenicznych roślin z gatunków *Lolium multiflorum* i *Festuca arundinacea* z genami związanymi z tolerancją stresów abiotycznych.

Efekt: udział we wdrożeniu technologii transformacji i regeneracji traw do prac Zakładu Biologii Stresów Środowiskowych, a następnie Zakładu Fizjologii Roślin IGR PAN.

5.2. Aktywność naukowa po uzyskaniu stopnia doktora (po 2016r.).

5.2.1 Aktywność naukowa związana z badaniem metabolizmu traw pastewnych (tkanka liści i węzłów krzewienia) w oparciu o analizę akumulacji lipidów i metabolitów pierwotnych.

Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuowałem badania dotyczące metabolizmu liści traw pastewnych w warunkach deficytu wody oraz rozpocząłem badania nad metabolizmem węzłów krzewienia w warunkach deficytu wody u traw pastewnych różniących się poziomem tolerancji suszy. Osiągnięcia z tego etapu badań opisano szczegółowo w punkcie 4.4.2. tego załącznika. W prowadzonych pracach wykorzystywałem najnowocześniejsze techniki fizjologiczno-molekularne w ramach kontynuowanej współpracy z Instytutem Maxa Plancka w Poczdamie. Prace badawcze wykonywane były w ramach działalności statutowej Zakładu Biologii

Stresów Środowiskowych IGRPAN oraz projektów finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki i Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

Staż naukowy:

Termin: 15 – 24 lipca 2019 (dwutygodniowy pobyt)

Miejsce: **Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Potsdam, Niemcy**

Opiekuni naukowcy: prof. Lothar Willmitzer, dr Aleksandra Skirycz

Temat: Analiza ilościowa i jakościowa glicerolipidów błonowych i metabolitów pierwotnych wyizolowanych z liści i węzłów krzewienia u traw kompleksu *Lolium-Festuca* w warunkach stresu deficytu wody. Wyjazd odbył się w ramach realizacji projektu NCN OPUS 12 „Wgląd w molekularne mechanizmy tolerancji deficytu wody i regeneracji po jego ustąpieniu u wybranych gatunków i mieszańców traw pastewnych kompleksu *Lolium-Festuca*”, nr 2016/23/B/NZ9/00820 (kierownik: A. Kosmala), którego byłem wykonawcą.

Efekty:

(H3) Perlikowski D., Lechowicz K., Skirycz A., Michaelis Ä., Pawłowicz I.*, Kosmala A. (2022). *Plant and Cell Physiology* 63: 353-368. DOI: 10.1093/pcp/pcac003.

(H4) Perlikowski D.*, Skirycz A., Marczak Ł., Lechowicz K., Augustyniak A., Michaelis Ä., Kosmala A. (2023). *Journal of Experimental Botany* 74: 396-414. DOI: 10.1093/jxb/erac398.

Lechowicz K., Pawłowicz I.*, **Perlikowski D.**, Arasimowicz-Jelonek M., Blicharz S., Skirycz A., Augustyniak A., Malinowski R., Rapacz M., Kosmala A. (2020). *International Journal of Molecular Sciences* 21 (16): 5639. DOI: 10.3390/ijms21165639.

5.2.2. Aktywność naukowa związana z projektowaniem konstruktów do transformacji i modyfikacji genomu traw.

Nawiązałem także współpracę z dr. Vojtěchem Hudzieczek, pracującym w Institute of Biophysics, Czech Academy of Sciences (Brno, Czechy), w Zakładzie Plant Developmental Genetics kierowanym przez prof. Romana Hobzę. Tematyka odbytego stażu obejmowała poznanie technik projektowania i składania wektorów do modyfikacji genomów traw w oparciu o nadekspresję, wyciszenie lub wyłączenie (knock-out przy wykorzystaniu CRISPR/Cas9) wybranych genów.

Staż naukowy:

Termin: 2 – 27 września 2019 (miesięczny pobyt)

Miejsce: **Institute of Biophysics, Czech Academy of Sciences, Brno, Czechy**

Opiekunowie naukowcy: prof. Roman Hobza, dr Vojta Hudzieczek

Temat: Poznanie metod transformacji roślin oraz stworzenie konstruktów do nadekspresji, wyciszania i wyłączenia genu aldolazy chloroplastowej.

Efekty: uzyskanie konstruktów do transformacji roślin i udział we wdrożeniu metod modyfikacji genomów traw do prac Zakładu Biologii Stresów Środowiskowych, a następnie Zakładu Fizjologii Roślin.

5.2.3. Aktywność naukowa związana z poznaniem mechanizmów zimotrwałości i mrozoodporności traw pastewnych.

Moje aktualne badania koncentrują się przede wszystkim wokół poznania mechanizmów zimotrwałości i mrozoodporności traw pastewnych w ramach uzyskanego przeze mnie w roku 2021 projektu „OPUS 21” pod tytułem „Kompleksowa analiza mechanizmów mrozoodporności w sekwencji procesów hartowania w chłodzie, rozhartowywania i ponownego hartowania, u traw pastewnych”, nr 2021/41/B/NZ9/00782, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki. Celem projektu jest poznanie kluczowych fizjologicznych i molekularnych komponentów metabolizmu roślinnego, związanych z nabywaniem/utratą mrozoodporności oraz związaną z tym procesem pamięcią stresową, w odniesieniu do sekwencji procesów hartowania, rozhartowywania i ponownego hartowania. Badania prowadzone są przy wykorzystaniu wartościowych modeli roślinnych z grupy traw pastewnych *Lolium-Festuca* – *F. arundinacea* (kostrzewa trzcinowa) i mieszańców *L. multiflorum*/*F. arundinacea*, różniących się poziomem zimotrwałości. W ramach tego projektu nawiązałem współpracę z grupą badawczą prof. Alisdair Fernie i dr Salehem Alseekh (Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Potsdam, Niemcy), których praca badawcza koncentruje się na poznaniu centralnego metabolizmu roślin. W ramach współpracy prowadzona jest analiza lipidomu i metabolomu pierwotnego wybranych gatunków i mieszańców traw.

Staże naukowe:

Termin pierwszego stażu: 4 maja – 5 czerwca 2023 (miesięczny pobyt)

Termin drugiego stażu: 2 – 11 kwietnia 2024 (dwutygodniowy pobyt)

Miejsce: **Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Potsdam, Niemcy**

Opiekunowie naukowci: prof. Alisdair Fernie, dr Saleh Alseekh

Temat: Analiza ilościowa i jakościowa lipidów oraz metabolitów pierwotnych u traw kompleksu *Lolium-Festuca* w warunkach oscylujących temperatur. Wyjazd odbył się w ramach realizacji projektu NCN OPUS 21: „Kompleksowa analiza mechanizmów mrozoodporności w sekwencji procesów hartowania w chłodzie, rozhartowywania i ponownego hartowania, u traw pastewnych” nr 2021/41/B/NZ9/00782, którego jestem kierownikiem.

Efekty:

Górna J., **Perlikowski D.**, Alseekh S., Rapacz M., Fernie A., Wójcik-Jagła M., Kosmala A. (2026). Remodeling of the leaf lipidome during cold acclimation, de-acclimation and re-acclimation influences the frost tolerance of *Festuca arundinacea*.” *Plant and Cell Physiology*, (manuskrypt na etapie korekty po recenzji).

5.3. Współpraca międzynarodowa.

- **Agricultural Research Organization, The Volcani Center, Institute of Plant Science Bet Dagan, Izrael:**

prof. Rina Kamenetsky

Temat: Molekularne podstawy męskiej sterility u czosnku (*Allium sativum*).

Efekt współpracy:

Shemesh-Mayer E., Ben-Michael T., Rotem N., Rabinowitch H.D., Doron-Faigenboim A., Kosmala A., **Perlikowski D.**, Sherman A., Kamenetsky R. (2015). *Frontiers in Plant Science* 6:271. DOI: 10.3389/fpls.2015.00271.

- **National Institute of Livestock and Grassland Science, Japonia:**

prof. Tadashi Takamizo

Temat: Zapoznanie się z technologią transformacji traw pastewnych z rodzaju *Lolium* i *Festuca* oraz zawiązanie współpracy mającej na celu uzyskanie transgenicznych roślin z gatunków *Lolium multiflorum* i *Festuca arundinacea* z przetransferowanymi genami związanymi z tolerancją stresów biotycznych oraz fotosyntezą.

Efekt współpracy:

Staż w Instytucie w Nishinasuno (1–30 października 2015).

- **Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Niemcy:**

prof. Lothar Willmitzer, prof. Alisdair Fernie, dr Sylwia Kierszniowska, dr Aleksandra Skirycz, dr Saleh Alseekh

Temat: Analiza zmian w lipidomie i metabolomie pierwotnym traw kompleksu *Lolium-Festuca* w warunkach deficytu wody i w warunkach oscylujących temperatur „zimowych”.

Efekty współpracy:

Staż w MPI, Poczdam (5 - 9 maja 2014).

Staż w MPI, Poczdam (31 października - 11 listopada 2016).

Staż w MPI, Poczdam (15 - 24 lipca 2019).

Staż w MPI, Poczdam (4 maja – 5 czerwca 2023).

Staż w MPI, Poczdam (2 – 11 kwietnia 2024).

Perlikowski D., Kierszniowska S., Sawikowska A., Krajewski P., Rapacz M., Eckhardt Ä., Kosmala A. (2016). *Frontiers in Plant Science* 7:1027. DOI: 10.3389/fpls.2016.01027.

(H1) Perlikowski D., Augustyniak A., Masajada K., Skirycz A., Soja A. M., Michaelis Ä., Wolter G., Kosmala A. (2019). *Plant Science* 283: 211-223. DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.02.001.

(H2) Perlikowski D., Augustyniak A., Skirycz A., Pawłowicz I., Masajada K., Michaelis Ä., Kosmala A. (2020). *Plant and Cell Physiology* 61: 492-504, DOI: 10.1093/pcp/pcz215

Lechowicz K., Pawłowicz I.*, **Perlikowski D.,** Arasimowicz-Jelonek M., Blicharz S., Skirycz A., Augustyniak A., Malinowski R., Rapacz M., Kosmala A. (2020). *International Journal of Molecular Sciences* 21 (16): 5639. DOI: 10.3390/ijms21165639

(H3) Perlikowski D., Lechowicz K., Skirycz A., Michaelis Ä., Pawłowicz I., Kosmala A. (2022). *Plant and Cell Physiology* 63: 353-368. DOI: 10.1093/pcp/pcac003.

(H4) Perlikowski D., Skirycz A., Marczak Ł., Lechowicz K., Augustyniak A., Michaelis Ä., Kosmala A. (2023). *Journal of Experimental Botany*, erac398. DOI: 10.1093/jxb/erac398.

W ramach:

Projekt NCN PRELUDIUM 7 (nr **2014/13/N/NZ9/00914**): „Analiza wybranych komponentów architektury systemu korzeniowego i metabolizmu korzenia w odniesieniu do tolerancji deficytu wodnego u traw kompleksu Lolium-Festuca”, 2015-2017, **D. Perlikowski (kierownik projektu)**.

Projekt NCN OPUS 12 (nr **2016/23/B/NZ9/00820**): „Wgląd w molekularne mechanizmy tolerancji deficytu wody i regeneracji po jego ustąpieniu u wybranych gatunków i mieszańców traw pastewnych kompleksu Lolium-Festuca”, 2017-2021, A. Kosmala (kierownik projektu), **D. Perlikowski (wykonawca)**.

Projekt NCN OPUS 21 (nr **2021/41/B/NZ9/00782**): „Kompleksowa analiza mechanizmów mrozoodporności w sekwencji procesów hartowania w chłodzie, rozhartowywania i ponownego hartowania, u traw pastewnych”, 2022-2026, **D. Perlikowski (kierownik projektu)**.

- **Institute of Biophysics, Czech Academy of Sciences, Czechy:**

prof. Roman Hobza, dr Vojta Hudzieczek

Temat: Trening metod transformacji roślin oraz stworzenie konstruktów do nadekspresji oraz wyciszania genu aldolazy chloroplastowej przy użyciu metody CRISPR/Cas9 i amiRNA.

Efekty współpracy:

Staż w Instytucie w Brnie (2 – 27 września 2019).

Uzyskanie konstruktów do transformacji roślin.

5.4. Współpraca krajowa.

- **Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Rolniczy i Ekonomiczny, Katedra Fizjologii Roślin:**

prof. Marcin Rapacz, prof. Agnieszka Płazek

Temat: Tolerancja stresów abiotycznych i biotycznych u traw kompleksu *Lolium-Festuca*.

Efekty współpracy:

Staż na Uniwersytecie Rolniczym w Krakowie (23 kwietnia – 4 maja 2012).

Kosmala A., **Perlikowski D.**, Pawłowicz I., Rapacz M. (2012). *Journal of Experimental Botany* 63: 6161-6172.

Perlikowski D., Kosmala A., Rapacz M., Kościelniak J., Pawłowicz I., Zwierzykowski Z. (2014). *Plant Biology* 16: 385-394.

Perlikowski D., Kierszniowska S., Sawikowska A., Krajewski P., Rapacz M., Eckhardt Ä., Kosmala A. (2016). *Frontiers in Plant Science*. 7:1027; DOI: 10.3389/fpls.2016.01027.

Pawłowicz I., Rapacz M., **Perlikowski D.**, Gondek K., Kosmala A. (2017). *Journal of Applied Genetics* 58: 421-435, DOI: 10.1007/s13353-017-0403-8.

Płazek A., Pociecha E., Augustyniak A., Masajada K., Dziurka M., Majka J., **Perlikowski D.**, Pawłowicz I., Kosmala A.* (2018). *Plant Physiology and Biochemistry* 123:43-53. DOI: 10.1016/j.plaphy.2017.11.022

W ramach:

Projekt **MRiRW, 2014-2020**: „Identyfikacja genów związanych z ekspresją zimotrwałości i tolerancji suszy u form introgresywnych *Lolium multiflorum*/*Festuca arundinacea*” (kierownik – A. Kosmala), **D. Perlikowski (wykonawca)**.

Projekt NCN OPUS 21 (nr **2021/41/B/NZ9/00782**): „Kompleksowa analiza mechanizmów mrozoodporności w sekwencji procesów hartowania w chłodzie, rozhartowywania i ponownego hartowania, u traw pastewnych”, 2022-2026, **D. Perlikowski (kierownik projektu)**.

- **Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Ekofizjologii Roślin:**

prof. Magdalena Arasimowicz-Jelonek

Temat: Rola tlenku azotu (NO) w metabolizmie roślinnym.

Efekty współpracy:

(H5) Perlikowski D.*, Lechowicz K., Pawłowicz I. Arasimowicz-Jelonek M., Kosmala A. (2022). *Scientific Reports* 12, 6500. DOI: 10.1038/s41598-022-10299-5.

(H6) Perlikowski D.*, Lechowicz K., Blicharz S., Arasimowicz-Jelonek M., Czapiewska A., Pawłowicz I., Kosmala A. (2025). *Frontiers In Plant Science* 16: 1652482. DOI: 3389/fpls.2025.1652482

Gajewska J., Floryszak-Wieczorek J., Kosmala A., **Perlikowski D.**, Żywicki M., Sobieszczuk-Nowicka E., Judelson H.S., Arasimowicz-Jelonek M. (2023). *Frontiers in Plant Science* 14: 1148222. DOI: 10.3389/fpls.2023.1148222

W ramach:

Projekt NCN OPUS 12 (nr **2016/23/B/NZ9/00820**): „Wgląd w molekularne mechanizmy tolerancji deficytu wody i regeneracji po jego ustąpieniu u wybranych gatunków i mieszańców traw pastewnych kompleksu *Lolium-Festuca*”, 2017-2021, A. Kosmala (kierownik projektu), **D. Perlikowski (wykonawca)**.

Projekt NCN OPUS 16 (nr **2018/31/B/NZ9/00355**) "Wpływ tlenku azotu na stan acetylacji białek histonowych u *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary", 2019-2022, M. Arasimowicz-Jelonek (kierownik projektu), **D. Perlikowski (wykonawca)**.

- **Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB w Radzikowie:**

dr Tomasz Góral, dr Piotr Ochodzki

Temat: Identyfikacja białek związanych z odpornością na fuzariozę kłosów u pszenicy, żyta i pszenżyta.

Efekty współpracy:

Perlikowski D., Wiśniewska H., Góral T., Kwiatek M., Majka M., Kosmala A. (2014). *Plos One* 9(10): e110822. DOI: 10.1371/journal.pone.0110822.

Perlikowski D., Wiśniewska H., Kaczmarek J., Góral T., Ochodzki P., Kwiatek M., Majka M., Augustyniak A., Kosmala A. (2016). *Frontiers in Plant Science* 7: 1217. DOI: 10.3389/fpls.2016.01217.

Perlikowski D., Wiśniewska H., Góral T., Ochodzki P., Majka M., Pawłowicz I., Belter J., Kosmala A.* (2019). *The Plant Pathology Journal* 35: 313–320. DOI: 10.5423/PPJ.OA.11.2018.0278.

- **Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, Zakład Biochemii Produktów Naturalnych:**

dr Łukasz Marczak

Temat: Analiza akumulacji metabolitów pierwotnych w warunkach deficytu wody u roślin w warunkach deficytu wody.

Efekty współpracy:

Perlikowski D., Czyżniewski M., Marczak Ł., Augustyniak A., Kosmala A (2016). *Frontiers in Plant Science* 7:1063; DOI: 10.3389/fpls.2016.01063.

Blicharz S., Beemster G.T.S., Ragni L., De Diego N., Spíchal L., Hernández A.E., Marczak Ł., Olszak M., **Perlikowski D.**, Kosmala A., Malinowski R.* (2021). *Plant Journal* 106: 1338-1355. DOI: 10.1111/tpj.15240.

(H4) Perlikowski D., Skirycz A., Marczak Ł., Lechowicz K., Augustyniak A., Michaelis Ä., Kosmala A. (2023). *Journal of Experimental Botany* 74: 396-414. DOI: 10.1093/jxb/erac398.

W ramach:

Projekt NCN OPUS 12 (nr **2016/23/B/NZ9/00820**): „Wgląd w molekularne mechanizmy tolerancji deficytu wody i regeneracji po jego ustąpieniu u wybranych gatunków i mieszańców traw pastewnych kompleksu *Lolium-Festuca*”, 2017-2021, A. Kosmala (kierownik projektu), **D. Perlikowski (wykonawca)**.

- **Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Katedra Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin.**

prof. Piotr Masojć

Temat: Molekularne podstawy porostania u żyta (*Secale cereale*).

Efekty współpracy:

Masojć P., Kosmala A., **Perlikowski D.** (2013). *Journal of Applied Genetics* 54:11-19. DOI: 10.1007/s13353-012-0127-8.

5.5. Staże zagraniczne.

- **Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Unite de Recherche Pluridisciplinaire Prairies et Plantes Fourrageres, Lusignan, Francja,** (dr M. Ghesquiere), tygodniowy staż (2013).
- **Max Planck Institute in Potsdam, Niemcy,** (prof. Lothar Willmitzer, prof. Alisdair Fernie), pięć odbytych wyjazdów stażowych (2014; 2016; 2019, 2023, 2024).
- **National Institute of Livestock and Grassland Science, Nishinasuno, Japonia,** (prof. Tadashi Takamizo), miesięczny staż (2015).
- **Institute of Biophysics, Czech Academy of Sciences, Brno, Czechy,** (prof. Roman Hobza, dr Vojta Hudzieczek), miesięczny staż (2019).

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

6.1. Działalność dydaktyczna.

6.1.1. Prowadzenie zajęć dla studentów i doktorantów.

2015 - Warsztaty dla studentów kierunku Biologia roślin użytkowych, Wydział Biologii, Uniwersytet im Adama Mickiewicza, 19 i 26 maja 2015 r. Zajęcia praktyczne (2x 30 min.) pt. „Trawy pastewne kompleksu *Lolium-Festuca* (życice-kostrzewy); krzyżowanie oddalone; tolerancja stresów abiotycznych (susza, niska temperatura) u traw”, (A. Kosmala, I. Pawłowicz, **D. Perlikowski**).

2016 - Warsztaty dla studentów kierunku Biologia roślin użytkowych, Wydział Biologii, Uniwersytet im Adama Mickiewicza, 9 i 10 maja 2016 r. Zajęcia praktyczne (2x 30 min.) pt. „Trawy pastewne kompleksu *Lolium-Festuca* (życice-kostrzewy); krzyżowanie oddalone; tolerancja stresów abiotycznych (susza, niska temperatura) u traw”, (A. Kosmala, I. Pawłowicz, **D. Perlikowski**).

2025 - Wykłady (7 godz.) dla doktorantów Poznańskiej Szkoły Doktorskiej Instytutów PAN pt. „Abiotic stress response in plants”, 29.04-3.06.2025, **D. Perlikowski**

6.1.2. Opieka nad studentami i promotorstwo.

2013 - **mgr Joanna Gębura**, Uniwersytet im. Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Biologii i Biochemii, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, 20-24 maja 2013.

Cel: Szkolenie z metod proteomicznych, w tym 2-D elektroforezy (opiekun: A. Kosmala, **D. Perlikowski**).

2014 - **mgr Mateusz Ochocki**, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Biologii (absolwent Instytutu Biologii Molekularnej i Biotechnologii); 2 miesiące.

Cel: Szkolenie w zakresie technik biologii molekularnej (opiekun: **D. Perlikowski**, A. Kosmala).

2014 - **Jagoda Wojczyńska**, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Biologii (studentka IV roku Ochrony Środowiska); 1 miesiąc.

Cel: Szkolenie w zakresie technik biologii molekularnej (opiekun: **D. Perlikowski**, A. Kosmala).

2015 - **Andżelika Drozda**, staż naukowy, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, cztery tygodnie.

Cel: praktyki na drugim roku studiów pierwszego stopnia biologii (opiekun: **D. Perlikowski**, A. Augustyniak).

2020 - **Zuzanna Śnioszek**, staż naukowy, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Bioinżynierii /III r. studiów 1. stopnia, 20.07.-21.08.2020 r.

Cel: Szkolenie w zakresie technik biologii molekularnej i fizjologii roślin, (opiekun: **D. Perlikowski**).

2021 - **mgr Adam Augustyniak**, uzyskanie stopnia doktora nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo nadany przez Radę Naukową IGR PAN w dniu 17 marca 2021 r. na podstawie pracy „Fizjologiczne i molekularne podstawy hartowania na mróz form introgresywnych życicy wielokwiatowej (*Lolium multiflorum* Lam.) i kostrzewy trzcinowej (*Festuca arundinacea* Schreb.)”, promotor: prof. dr hab. A. Kosmala; **promotor pomocniczy: dr D. Perlikowski**.

2023 - **Barbara Krzętowska**, staż naukowy w ramach projektu „Uniwersytet Jutra: Staż na dobry start!”, UAM w Poznaniu, Wydział Biologii, III r. studiów 2. stopnia, 2.10.2023-2.12.2023.

Cel: Szkolenie w zakresie technik biologii molekularnej i fizjologii roślin (opiekun: **D. Perlikowski**).

2025 - **mgr Gabriela Skowron**, praktykantka, IHAR-PIB w Radzikowie, 20-31.10 oraz 17-28.11.2025.

Cel: Szkolenie w zakresie analizy parametrów fizjologicznych roślin (opiekun: **D. Perlikowski**, I. Pawłowicz, J. Górna, A. Kosmala).

2026 - **mgr Adrianna Czapiewska**, doktorantka w Poznańskiej Szkole Doktorskiej IPAN od 2021 roku: promotor: dr hab. I. Pawłowicz; **promotor pomocniczy: dr D. Perlikowski**.

2026 - **mgr Julia Górna**, doktorantka w Poznańskiej Szkole Doktorskiej IPAN od 2022 roku – promotor: prof. dr hab. A. Kosmala; **promotor pomocniczy: dr D. Perlikowski**.

6.2. Działalność organizacyjna.

- **2018-2019**
Członek Rady Młodych Pracowników Naukowych Instytutu Genetyki Roślin PAN w Poznaniu.
- **7-8.05.2019**
Współorganizator workshopu BIO-TALENT, „Abiotic and biotic stresses in changing climate conditions”.

6.3. Działalność popularyzująca naukę.

- **14.01.2014**
Noc Biologów, IGR PAN, Poznań „Tajemnicze substancje występujące w roślinach”, udział w przygotowaniu warsztatów dla dzieci i prowadzenie zajęć.
- **24.04.2017**
XX Festiwal Nauki i Sztuki, IChB Poznań „IGRaszk z roślinami”, udział w przygotowaniu warsztatów dla dzieci i prowadzenie zajęć.
- **9.04.2025**
Targi Pracy na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, **UPPoluj** pracę - Wydział Inżynierii Środowiska i Inżynierii Mechanicznej UPP. IGR PAN reprezentowali: J. Ceraży-Waliszewska, **D. Perlikowski**. Zaprezentowano uczestnikom możliwości kontynuacji nauki w IGR PAN, jak i możliwości rozpoczęcia pracy w Instytucie.

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

7.1. Wyróżnienia i nagrody.

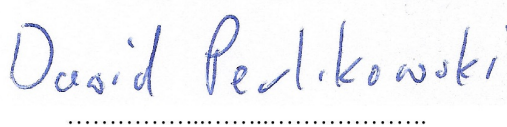
- Nagroda indywidualna Dyrektora IGR PAN za osiągnięcia publikacyjne w roku 2012, 2013, 2014 i 2016.
- Stypendium z „funduszu dla młodych naukowców IGR PAN” na odbycie staży naukowych w roku 2013, 2014 i 2015.
- Nagroda Komitetu Naukowego konferencji: 30th Meeting of the EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section “Quantitative traits breeding for multifunctional grasslands and turf” dla Młodych Naukowców za dotychczasowe osiągnięcia naukowe. Vrnjačka Banja, Serbia, 12-16 maja 2013.
- **Wyróżnienie w konkursie na najlepszą pracę eksperymentalną opublikowaną w latach 2011-2012** przyznane w 2013 roku przez **Polskie Towarzystwo Biologii Eksperymentalnej Roślin** dla Zespołu w składzie: Arkadiusz Kosmala, **Dawid Perlikowski**, Izabela Pawłowicz oraz Marcin Rapacz (UR w Krakowie). Za pracę: Kosmala A., Perlikowski D., Pawłowicz I., Rapacz M. (2012). Changes in the chloroplast proteome following water deficit and subsequent watering in a high and a low drought tolerant genotype of *Festuca arundinacea*. *Journal of Experimental Botany* 63: 6161-6172.
- Nagroda ufundowana przez Swiss National Science Foundation (SNF) w ramach grantu SCOPES na podstawie oceny dotychczasowego dorobku naukowego badacza, celem pokrycia częściowych kosztów uczestnictwa w 20th Eucarpia General Congress of Eucarpia, 29 sierpnia – 1 września 2016, Zurich, Szwajcaria.
- **Laureat stypendium naukowego, programu START 2017**, ufundowanego przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej (FNP) za wybitne osiągnięcia naukowe w dziedzinie agronomii, (przyznano 10 maja 2017).
- Nagroda dla Młodych Naukowców „*Stapledon Memorial Trust Award for European Early Stage Researchers*” for the EGF-EUCARPIA 2019 Joint Symposium in Zurich, 24-27 września 2019, Zurich, Szwajcaria.

7.2. Członkostwo w międzynarodowych towarzystwach naukowych.

2025 - obecnie

Członek organizacji EUCARPIA - European Association for Research on Plant Breeding.

 Podpisano przez/ Signed by:
Dawid Bogdan
Perlikowski
Data/ Date: 16.03.2026 13:48
mSzafir


.....

(podpis wnioskodawcy)