

**Załącznik nr 2**

**dr Anna Aksmann**

**Autoreferat przedstawiający opis  
dorobku  
oraz osiągnięć naukowych**

**Uniwersytet Gdański  
Wydział Biologii  
Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin**

**Gdańsk, 2016**

**1. Imię i nazwisko:** ANNA AKSMANN

---

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:**

**Doktor nauk biologicznych w zakresie biologii, 2005**, Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii.

Tytuł rozprawy doktorskiej, wykonanej w Katedrze Fizjologii Roślin:

„Znaczenie promieniowania fotosyntetycznie czynnego oraz UV-B w oddziaływaniu trójpięścieniowych węglowodorów aromatycznych na zielenice planktonowe z rodzaju *Scenedesmus*”.

Promotor: Prof. dr hab. Zbigniew Tukaj.

**Magister biologii w zakresie biologii ogólnej, 1995**, Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii.

Tytuł pracy magisterskiej, wykonanej w Katedrze Fizjologii Roślin:

„Rola światła w procesach wzrostu i perforacji koleoptyli pszenicy *Triticum aestivum* L. odmiany Halisa”.

Promotor: dr Krystyna Burkiewicz.

---

**3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.**

Od 01.04.2005 do chwili obecnej: adiunkt w Katedrze Fizjologii i Biotechnologii Roślin, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański.

Od 01.10.1997 do 31.03.2005: asystent w Katedrze Fizjologii Roślin, Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii, Uniwersytet Gdański. W tym roczny (od października 1999 do września 2000) urlop macierzyński/wychowawczy.

---

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

a) tytuł osiągnięcia naukowego:

**Mechanizm toksycznego oddziaływania policyklicznych węglowodorów aromatycznych na jednokomórkowe zielenice planktonowe.**

b) publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

1. **Aksmann A.**, Pokora W., Baścik-Remisiewicz A., Dettlaff-Pokora A., Tukaj Z. 2016. High hydrogen peroxide production and antioxidative enzymes expression in the *Chlamydomonas reinhardtii* cia3 mutant with an increased tolerance to cadmium and anthracene. *Phycol. Res.* 64: 300-311.

*IF: 1,42; MNiSW: 25. Mój udział procentowy szacuję na 40%.*

2. **Aksmann A.**, Pokora W., Baścik-Remisiewicz A., Dettlaff-Pokora A., Wielgomas B., Dziadziuszko M., Tukaj Z. 2014. Time-dependent changes in antioxidative enzymes expression and photosynthetic activity of *Chlamydomonas reinhardtii* cells

under acute exposure to cadmium and anthracene. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 110: 31-40.

*IF: 2,762; MNiSW: 30. Mój udział procentowy szacuję na 60%.*

3. Baścik-Remisiewicz A., Aksmann A., Żak A., Kowalska M., Tukaj Z., 2011. Toxicity of cadmium, anthracene and their mixture to *Desmodesmus subspicatus* estimated by algal growth-inhibition ISO standard test. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 60 (4): 610-617.

*IF: 1,927; MNiSW: 25. Mój udział procentowy szacuję na 45%.*

4. Aksmann A., Shutova T., Samuelsson G., Tukaj Z., 2011. The mechanism of anthracene interaction with photosynthetic apparatus: a study using intact cells, thylakoid membranes and PS II complexes isolated from *Chlamydomonas reinhardtii*. *Aquat. Toxicol.* 104 (3-4): 205-210.

*IF: 3,761; MNiSW: 45. Mój udział procentowy szacuję na 70%.*

5. Aksmann A., Tukaj Z., 2008. Intact anthracene inhibits photosynthesis in algal cells: A fluorescence induction study on *Chlamydomonas reinhardtii* cw92 strain. *Chemosphere*, 74: 26-32.

*IF: 3,054; MNiSW: 24. Mój udział procentowy szacuję na 85%.*

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

Osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego zostało przedstawione w pięciu monotematycznych publikacjach, dotyczących mechanizmu toksycznego oddziaływania policyklicznych węglowodorów aromatycznych, na przykładzie antracenu, na jednokomórkowe zielenice planktonowe. W czterech z tych prac jestem zarówno pierwszym autorem, jak i autorem korespondencyjnym, a **sumaryczny IF** wspomnianych publikacji wynosi **12,924**.

Policykliczne węglowodory aromatyczne (ang. polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) oraz ich pochodne od wielu lat stanowią przedmiot badań naukowych, gdyż substancje te, należące do głównych antropogenicznych zanieczyszczeń środowiska naturalnego, wykazują działanie toksyczne i mutagenne, a akumulując się w organizmach żywych stanowią zagrożenie dla zdrowia i życia człowieka. Problem toksycznego wpływu PAHs na organizmy roślinne był niejednokrotnie podnoszony w badaniach z zakresu ekotoksykologii i fizjologii roślin, jednak uzyskiwane wyniki, koncentrujące się w głównej mierze na wzrostowych efektach działania PAHs, nie dawały jednoznacznej odpowiedzi co do pierwotnych przyczyn ich toksyczności.

Badania nad toksycznym wpływem PAHs i ich pochodnych na jednokomórkowe glony planktonowe rozpoczęłam jako asystent zatrudniony w Katedrze Fizjologii Roślin UG, pod kierunkiem prof. dr hab. Zbigniewa Tukaja. Prowadzone przeze mnie badania, finansowane z grantu promotorskiego KBN oraz czterech grantów uczelnianych BW, skoncentrowane były na dwóch trójpięściennych węglowodorach aromatycznych: antracenie i fenantrenie. Badania te podsumowane zostały w rozprawie doktorskiej pt. „Znaczenie promieniowania fotosyntetycznie czynnego oraz UV-B w oddziaływaniu trójpięściennych węglowodorów aromatycznych na zielenice planktonowe z rodzaju *Scenedesmus*”. Przedstawione w niej wyniki pozwoliły wykazać między innymi, że toksyczność PAHs oraz ich pochodnych silnie zależy od natężenia promieniowania fotosyntetycznie czynnego (PAR) oraz od dostępności w środowisku nieorganicznych form węgla (Aksmann i Tukaj 2004). Badania wskazały także, że szczepy blisko ze sobą spokrewnionych glonów mogą różnić się drastycznie wrażliwością na działanie PAHs i ich pochodnych, oraz że izomeryczne formy tych substancji, mimo zbliżonej budowy, wykazują niejednakowy poziom toksyczności względem badanych organizmów (Aksmann i Tukaj 2004, Tukaj i Aksmann 2007). Analiza wspomnianych powyżej wyników na tle dostępnej literatury nie dała wyraźnej odpowiedzi, co do możliwych przyczyn różnej toksyczności PAHs i reakcji na nie różnych szczepów glonów. Z tego względu, w dalszych doświadczeniach postanowiłam zbadać pierwotne przyczyny oddziaływania PAHs na jednokomórkowe zielenice planktonowe.

Szukając mechanizmów leżących u podstaw toksyczności PAHs skupiłam się na antracenie (ANT) – węglowodorze o wysokiej toksyczności i silnych właściwościach fotouwrażliwiających (Huang i wsp. 1997, Aksmann i Tukaj 2004). Warto tutaj zaznaczyć, że przedmiotem mojego zainteresowania było działanie antracenu w jego niezmienionej formie, podczas gdy większość dostępnych danych literaturowych jako przyczynę toksyczności ANT wskazywała jego podatność na fotomodifikację, czyli zachodzące pod wpływem światła słonecznego przemiany do pochodnych chinonowych (Huang i wsp. 1997, Mallakin i wsp. 1999). O ile toksyczność chinonów wynika głównie z możliwości zastępowania przez te substancje naturalnych komponentów komórkowych układów redox (np. plastochinonu, ubichinonu), co wywołuje zaburzenia przebiegu podstawowych procesów

metabolicznych, o tyle mechanizm toksycznego działania niezmienionych PAHs nie jest tak oczywisty.

Ze względu na hydrofobowy charakter PAHs, akumulują się one w komórce roślinnej, przede wszystkim w bogatym w błony białkowo-lipidowe chloroplaście, zaburzając proces fotosyntezy (Duxbury i wsp. 1997). W badaniach zmian funkcjonowania aparatu fotosyntetycznego pod wpływem substancji toksycznych cennym narzędziem są nieinwazyjne metody oparte na pomiarze fluorescencji chlorofilu *a in vivo*: metoda pulsowej modulacji amplitudy (PAM), czy metoda analizy krzywych Kautsky'ego (testy OJIP). Dlatego też w pierwszym etapie badań postanowiłam użyć tych właśnie metod w celu przeanalizowania zmian w przebiegu fotosyntezy zachodzących pod wpływem ANT. Wykorzystanie modelowej jednokomórkowej zielenicy *Chlamydomonas reinhardtii* oraz metody testów OJIP pozwoliło wykazać, że ANT powoduje zmiany przebiegu krzywej indukcji i wygaszania fluorescencji chlorofilu *a*, świadczące o zahamowaniu przepływu elektronów po donorowej stronie fotosystemu II (PS II), najprawdopodobniej pomiędzy chinonami Qa i Qb, czemu towarzyszy obniżenie kwantowej wydajności fotochemicznej PS II (Aksmann i Tukaj 2008). Co więcej, uzyskane wyniki sugerowały, że miejscem działania ANT jest nie tylko PS II, ale także łańcuch transportu elektronów z PS II do fotosystemu I (PS I), a być może również sam PS I. Świadczył o tym fakt, że wydajność wydzielania tlenu fotosyntetycznego, zależna od harmonijnego działania obydwu fotosystemów, była przez ANT hamowana bardziej, niż wskazywałyby na to parametry fluorescencji otrzymywane na podstawie funkcjonowania samego PS II. W celu zbadania ww. problemu postanowiłam zatem przeprowadzić bardziej szczegółową analizę oddziaływania ANT na aparat fotosyntetyczny, wykorzystując w tym celu tylakoidy i kompleksy PS II izolowane z komórek *Chlamydomonas reinhardtii*, które to badania wykonałam podczas jednego z moich pobytów w Umea Plant Science Center (Umea, Szwecja). Dysponując izolowanymi kompleksami PS II wykazać mogłam jednoznacznie, że ANT nie oddziałuje bezpośrednio na fotosystem II (Aksmann i wsp. 2011). Ciekawe wyniki przyniosły także badania interakcji ANT z izolowanymi tylakoidami wskazujące, że w układzie takim ANT stymuluje przepływ elektronów przez łańcuch fotosyntetyczny (Aksmann i wsp. 2011). Ponieważ podobne wyniki uzyskiwane są dla substancji elektrofilowych (Lotina-Hennsen i wsp. 1998) oraz czynników

rozprzegających fosforylację fotosyntetyczną (McCarty 1980), wspomniany efekt ANT mógł mieć teoretycznie dwie przyczyny. Po pierwsze ANT mógłby pełnić funkcję sztucznego akceptora elektronów, odbierając je od któregoś z przenośników łańcucha. W świetle danych literaturowych wydawało się to jednak mało prawdopodobne z powodu niskiego potencjału redukcyjnego ANT (Vanýsek 2004). Druga z możliwych przyczyn stymulującego wpływu ANT na transport elektronów w łańcuchu fotosyntetycznym wynika z hydrofobowych własności tego węglowodoru. Wiadomo, że PAHs akumulując się w błonach białkowo-lipidowych (Duxbury i wsp. 1997) powodują w nich konformacyjne zmiany. Tak więc postawiona została hipoteza, że ANT, poprzez zwiększenie przepuszczalności błony tylakoidów dla protonów i zmniejszenie gradientu protonowego, działa jako czynnik rozprzegający fosforylację fotosyntetyczną, co w układzie *in vitro* przyspiesza transport elektronów, a w układzie *in vivo* skutkuje inhibicją fotosyntezy. Hipoteza ta została zweryfikowana dzięki analizie fluorescencji chlorofilu *a in vivo* techniką PAM. Metoda ta umożliwia oszacowanie wartości parametrów niefotochemicznego wygaszania fluorescencji (NPQ, qEmax), których wielkość zależy od wielkości gradientu protonów w poprzek błony tylakoidów (Demmig-Adams i Adams 2006; Müller i wsp. 2001). Rzeczywiście, przeprowadzone przeze mnie badania wykazały, że ANT powoduje spadek wartości NPQ i qEmax w komórkach *C. reinhardtii* (Aksmann i wsp. 2011), co potwierdza rozprzegające działanie tej substancji i pozwala wyjaśnić zarówno stymulację przepływu elektronów w układzie *in vitro* (izolowane tylakoidy) jak i inhibicję fotosyntezy *in vivo*.

W tym miejscu warto nadmienić, że opisane powyżej badania skoncentrowane były wyłącznie na antracenie jako substancji działającej pojedynczo, podczas gdy w świetle współczesnych badań z zakresu toksykologii szczególnej wagi nabiera kwestia współwystępowania w środowisku wodnym różnych grup zanieczyszczeń chemicznych (De Zwart i Posthuma 2005). Wiadomo, że wraz z policyklicznymi węglowodarami aromatycznymi, do których należy ANT, w środowisku wodnym występują bardzo często metale ciężkie (Gust, 2006), a działanie takich mieszanin substancji toksycznych jest często trudne do przewidzenia wskutek występowania między nimi interakcji (Faust i wsp. 2003). Przedmiotem moich dalszych rozważań naukowych stał się zatem łączny wpływ ANT i kadmu (Cd), jako przedstawiciela metali ciężkich, na komórki zielenic planktonowych.

W celu zbadania złożonych zależności, jakie występują podczas oddziaływania mieszanin substancji toksycznych na organizm roślinny, wybrany został standardowy test toksykologiczny ISO (ISO 2004, protokół 8692), w którym organizmem wskaźnikowym jest zielenica planktonowa *Desmodesmus subspicatus*. Ażeby lepiej scharakteryzować zmiany zachodzące w komórce roślinnej poddanej łącznemu działaniu ANT i Cd, do zalecanego w procedurze ISO wskaźnika toksyczności – liczebności populacji – dodane zostały parametry opisujące przebieg procesu fotosyntezy. Uzyskane wyniki wykazały, że mieszanina ANT i Cd aplikowanych w niskich stężeniach (odpowiadających wartościom toksykologicznym EC<sub>10</sub>) działa na *D. subspicatus* silniej, niż wynikałoby to z sumy efektów substancji działających pojedynczo. Tak więc interakcja między toksykantami miała charakter synergistyczny, zarówno w odniesieniu do hamowania wzrostu populacji, jak i ogólnego stanu aparatu fotosyntetycznego (**Baścik-Remisiewicz i wsp. 2011**). Ponieważ warunki prowadzenia glonowego testu ISO (m.in. uboga pożywka, niska gęstość wyjściowa populacji) z założenia zbliżone są do warunków panujących w naturalnym środowisku występowania organizmów testowych, wnioskować można, że toksyczność policyklicznych węglowodorów aromatycznych trafiających do zbiorników wodnych może być znacząco wzmagana przez współwystępujące z PAHs metale ciężkie. Jako że obydwie wspomniane grupy substancji należą do induktorów powstawania reaktywnych form tlenu (RFT) w komórce, naturalnym wyborem dalszej drogi badań była analiza parametrów stresu oksydacyjnego u glonów poddanych działaniu ANT i Cd w kontekście możliwości aklimatyzacyjnych organizmu do warunków takiego stresu.

Kolejny cykl doświadczeń, oparty na intensywnych kulturach *Chlamydomonas reinhardtii* pozwolił wykazać, że zarówno ANT, jak i Cd powodują wzmózoną produkcję H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> w traktowanych komórkach (**Aksmann i wsp. 2014**). Pomimo tak jednoznacznego symptomu występowania silnego stresu oksydacyjnego, wzrost populacji *C. reinhardtii* był zahamowany tylko częściowo, co oznacza, że duża frakcja komórek była w stanie kontynuować wzrost i podziały. Wiadomo, że stan stresowy uruchamia w komórce różnorodne procesy prewencyjne/naprawcze na poziomie „molekularnym” i „biochemiczno-fizjologicznym”. Aby wyjaśnić, w jaki sposób glony zneutralizować mogą skutki stresu oksydacyjnego wywołanego działaniem ANT i Cd, zaplanowana została seria doświadczeń mających na celu

prześledzenie czasowych zmian molekularnych i fizjologicznych zachodzących w traktowanych komórkach (Aksmann i wsp. 2014). Analiza procesów aklimatyzacyjnych na poziomie molekularnym obejmowała zmiany ekspresji genów kodujących główne enzymy antyoksydacyjne: dysmutazę ponadtlenkową (SOD), peroksydazę askorbinianową (APX), katalazę (CAT) oraz zmiany aktywności tych enzymów, ze szczególnym uwzględnieniem chloroplastowej i mitochondrialnej izoformy SOD. Aby scharakteryzować odpowiedź komórki na poziomie "fizjologicznym", badaniu poddano aktywność fotosyntetyczną badanego organizmu, poprzez analizę parametrów fluorescencji chlorofilu *a in vivo*.

Uzyskane wyniki wskazały, że zaburzenia fotosyntezy w komórkach traktowanych ANT i Cd mają charakter przejściowy: aktywność fotosyntetyczna, najsilniej obniżona w szóstej godzinie ekspozycji komórek na toksykanty, po kilkunastu godzinach ekspozycji wracała do stanu bliskiego komórkom kontrolnym (Aksmann i wsp. 2014). Jak wykazała analiza parametrów fluorescencji chlorofilu *a*, obserwowany w szóstej godzinie ekspozycji spadek ogólnej wydajności aparatu fotosyntetycznego i trzykrotny wzrost ilości energii rozpraszanej niefotochemicznie był spowodowany głównie około 50%-owym zmniejszeniem frakcji aktywnych centrów reakcji PS II. W tym samym czasie w komórkach traktowanych wzrosła znacząco ilość transkryptów genów kodujących SOD i CAT, a w następnej kolejności zaobserwować można było postępujący wzrost aktywności wspomnianych enzymów. Analiza zmian ilości transkryptów i aktywności poszczególnych izoform enzymów antyoksydacyjnych pozwoliła wysnuć interesujący wniosek, że za ochronę mitochondrium przed RFT odpowiadają CAT oraz mitochondrialna izoforma Mn-SOD, podczas gdy głównym enzymem chroniącym chloroplast jest chloroplastowa izoforma Mn-SOD. Ponieważ w warunkach stresu zaobserwowano spadek aktywności chloroplastowej izoformy Fe-SOD oraz APX, silna ekspresja genu kodującego chloroplastową Mn-SOD została uznana za rodzaj komplementacji mającej na celu efektywną neutralizację RFT w chloroplastach. W oparciu o całościową interpretację powyższych wyników przyjęto, że odpowiedź komórki na stres wywołany działaniem ANT i Cd rozpoczyna się stymulacją ekspresji genów kodujących SOD, APX i CAT, po której następuje wzrost aktywności tych enzymów, co umożliwia stopniowe przywrócenie aktywności fotosyntetycznej komórek. Podsumować więc można, że w zwalczaniu skutków toksycznego



działania substancji takich jak ANT i Cd kluczową rolę odgrywa utrzymanie redoksowej homeostazy komórki.

Silny związek pomiędzy metabolizmem RFT, a stopniem odporności komórki na substancje toksyczne potwierdził następny cykl badań, którego celem było wykazanie przyczyn różnej odporności szczepu dzikiego *C. reinhardtii* i jego mutantu *cia3* na działanie ANT i Cd (Aksmann i wsp. 2016). Dysfunkcyjność mutantu *cia3* polega na braku jednej z izoform anhidrazy węglanowej (CAH3), należącej do enzymów odpowiedzialnych za wydajną asymilację CO<sub>2</sub> (Hanson i wsp. 2003, Shutova i wsp. 2008). Dysfunkcja ta powoduje, że mutanty *cia3* odznaczają się niewielkimi możliwościami aklimatyzacyjnymi do zmian stężenia CO<sub>2</sub> w środowisku, wskutek czego narażone są na stres oksydacyjny wywołany zahamowaniem procesów fotosyntetycznych. Oczekiwać by można, że tego typu dysfunkcja uwrażliwi komórki *cia3* na działanie toksykantów. Co zaskakujące, przeprowadzone badania wskazały, że mutant *cia3* jest mniej wrażliwy na działanie ANT i Cd niż szczep dziki (WT) *C. reinhardtii*, co przejawiało się między innymi silniejszym hamowaniem wzrostu populacji i fotosyntezy w traktowanych komórkach WT (Aksmann i wsp. 2016). Szukając powodu/powodów różnej tolerancji obu szczepów na Cd i ANT, szczególną uwagę zwrócono na różnice w produkcji i detoksyfikacji RFT w komórkach badanych organizmów, ponieważ zarówno Cd i ANT są znane jako induktory stresu oksydacyjnego (Huang i wsp. 1997; Szivák i wsp. 2009; Aksmann i wsp. 2014). Przeprowadzone badania wykazały, że w warunkach kontrolnych produkcja H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> przez mutant *cia3* znacznie przewyższa wytwarzanie tej substancji przez WT. Aby wytłumaczyć to zjawisko należy wziąć pod uwagę, że białko CAH3 wspiera funkcjonowanie kompleksu utleniania wody w PS II (Shutova i wsp., 2008). Z tego powodu komórki mutantu *cia3* mają mniej wydajne PS II niż komórki WT (Villarejo et al, 2002, Aksmann et al. 2016), a optymalny transport elektronów w tych komórkach jest utrzymywany przez nadprodukcję centrów reakcji PS II. Idąc dalej, zwiększona liczba centrów reakcji PS II o zmniejszonej wydajności może być przyczyną wysokiej produkcji H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> przez komórki *cia3*, gdyż obniżeniu efektywności transportu elektronów towarzyszy zazwyczaj zwiększenie produkcji RFT (Apel i Hirt 2004), m.in. anionorodnika ponadtlenkowego (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), przekształcanego następnie w nadtlenek wodoru. Jeżeli chodzi o enzymy antyoksydacyjne, stwierdzono, że poziom

transkryptów izoform SOD, jak również aktywność izoenzymów była wyższa w komórkach *cia3* niż w komórkach WT (Aksmann i wsp. 2016). Nie stwierdzono jednakże znaczących różnic w poziomach transkryptów APX i CAT, choć w komórkach *cia3* aktywność tych enzymów była nieco podwyższona.

W przypadku komórek WT traktowanych ANT i Cd, zaobserwować można było wyraźne symptomy stresu oksydacyjnego w postaci gwałtownego wzrostu produkcji H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, podczas gdy w komórkach *cia3* zmiany te były znacznie mniej zaznaczone. W komórkach WT poddanych działaniu substancji toksycznych ekspresja i aktywność izoform SOD również była wyższa niż u *cia3*, ale aktywność APX i CAT były podobne u obu szczepów. Ponieważ odporność komórek na stres chemiczny zależy w dużym stopniu od aktywności enzymów antyoksydacyjnych (Foyer i Noctor 2005; Pokora i Tukaj 2010; Pokora i Tukaj 2013) założyć można, że utrzymujący się wysoki poziom ekspresji i aktywności izoform SOD u *cia3* jest jednym z powodów jego wyższej tolerancji na stres wywołany działaniem ANT i Cd. Warto zauważyć, że opisywane tu badania stanowią jedyną jak dotąd opublikowaną dokumentację odpowiedzi mutantu *cia3* na stres chemiczny i analizę metabolizmu RFT w jego komórkach.

Biorąc pod uwagę całokształt wyników opisanych w powyższym cyklu publikacji, przedstawić można **prawdopodobną sekwencję zdarzeń, zachodzących w komórce glonowej eksponowanej na antracen**. Toksyczne działanie tej substancji zaczyna się przypuszczalnie od niespecyficznego oddziaływania na błony białkowo-lipidowe. W przypadku chloroplastu prowadzi to do zmian struktury błon tylakoidów i rozprężenia fotofosforylacji, co powoduje inhibicję wiązania CO<sub>2</sub>, która z kolei prowokuje nadprodukcję RFT prowadzącą do uszkodzenia fotosystemów. W takich warunkach w komórce uruchamiane zostają mechanizmy ochronne, wśród których niezwykle istotną rolę pełnią enzymy antyoksydacyjne, utrzymujące redoksovą homeostazę komórki i decydujące w dużej mierze o wrażliwości organizmu na stres węglowodorowy.

#### **Literatura** (zawiera pozycje nie wymienione w punkcie 4b)

1. Aksmann A., Tukaj Z. 2004. The effect of anthracene and phenanthrene on the growth, photosynthesis and SOD activity of green alga *Scenedesmus armatus* depend on the PAR irradiance and CO<sub>2</sub> level. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 47: 177-184.

2. De Zwart D., Posthuma L. 2005. Complex mixture toxicity for single and multiple species: proposed methodologies. *Environ. Toxicol. Chem.* 24(10): 2665-2676.
3. Demmig-Adams B., Adams W.W. 2006. Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytol.* 172(1): 11-21.
4. Duxbury C. L., Dixon D. G., Greenberg B.M. 1997. Effects of simulated solar radiation on the bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the duckweed *Lemna gibba*. *Environ. Toxicol. Chem.* 16(8): 1739-1748.
5. Faust M., Altenburger R., Backhaus T., Blanck H., Boedeker W., Gramatica P. et al. 2003. Joint algal toxicity of 16 dissimilarly acting chemicals is predictable by the concept of independent action. *Aquat. Toxicol.* 63:43-63.
6. Gust K.A. 2006. Joint toxicity of cadmium and phenanthrene in the freshwater amphipod *Hyalella azteca*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50:7-13.
7. Hanson D.T., Franklin L.A., Samuelsson G., Badger M.R. 2003. The *Chlamydomonas reinhardtii* *cia3* mutant lacking a thylakoid lumen-localized carbonic anhydrase is limited by CO<sub>2</sub> supply to rubisco and not photosystem II function *in vivo*. *Plant Physiol.* 132: 2267-2275.
8. Huang X.D., McConkey B.J., Babu T.S., Greenberg B.M. 1997. Mechanisms of photoinduced toxicity of photomodified anthracene to plants: inhibition of photosynthesis in the aquatic higher plant *Lemna gibba* (duckweed). *Environ. Toxicol. Chem.* 16(8): 1707-1715.
9. ISO 2004. International Organization for Standardization. Water quality - Fresh algal growth inhibition test with unicellular green algae. ISO 8692:2004 (E)
10. Lotina-Hennsen B., Achnine L., Ruvalcaba N.M., Ortiz A., Hernández J., Farfán N., Aguilar-Martínez M. 1998. 2,5-Diamino-p-benzoquinone derivatives as photosystem I electron acceptors: synthesis and electrochemical and physicochemical properties. *J. Agr. Food Chem.* 46(2): 724-730.
11. Mallakin A., McConkey B.J., Miao G., McKibben B., Snieckus V., Dixon D.G. et al. 1999. Impacts of structural photomodification on the toxicity of environmental contaminants: anthracene photooxidation products. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 43:204-212.
12. McCarty R.E. 1980. Delineation of the mechanism of ATP synthesis in chloroplast. Use of uncouplers energy transfer inhibitors and modifiers of CF<sub>1</sub>. A. San Pietro (Ed.), *Methods in Enzymology*, vol. 69 Academic Press, New York/London, 1980
13. Müller P., Li X.P., Niyogi K.K. 2001. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiol.* 125(4): 1558-1566.
14. Tukaj Z., Aksmann A., 2007. Toxic effects of anthraquinone and phenanthrenequinone upon *Scenedesmus* strains (green algae) at low and elevated concentration of CO<sub>2</sub>. *Chemosphere* 66: 480-487.
15. Shutova T., Kenneweg H., Buchta J., Nikitina J., Terentyev V., Chernyshov S., Andersson B., Allakhverdiev S.I., Klimov V.V., Dau H., Junge W., Samuelsson G. 2008. Photosystem II associated *Cah3* in *Chlamydomonas* enhance the O<sub>2</sub> evolution rate by proton removal. *EMBO J.* 27:782-791.
16. Vanýsek P. 2004. Reduction and oxidation potentials for certain ion radicals. D.R. Lide (Ed.), *Handbook of Chemistry and Physics* (85th ed.), CRC Press, USA, 2004.

---

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych.

### 5.1. Publikacje naukowe

Poza publikacjami składającymi się na osiągnięcie naukowe przedstawione powyżej, dorobek mój składa się z 9 publikacji (**łączny IF: 18,058**), których jestem współautorem. Poniżej znajduje się krótkie omówienie tych prac.

5.1.1. Zakres tematyczny: toksyczność policyklicznych węglowodorów aromatycznych i ich pochodnych względem zielenic planktonowych.

- 1) Tukaj Z., Bohdanowicz J., **Aksmann A.** 1998. A morphometric and stereological analysis of ultrastructural changes in two *Scenedesmus* (Chlorococcales, Chlorophyta) strains subjected to diesel fuel oil pollution. *Phycologia* 37 (5): 388-393.
- 2) **Aksmann A.**, Tukaj Z. 1999. Wpływ antracenu i fenantrenu na glony *Scenedesmus armatus* (Chlorophyta) w zależności od natężenia napromieniowania PAR. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 469: 279-284.
- 3) **Aksmann A.**, Boryń K., Tukaj Z. 2004. Rola procesu fotomodyfikacji w toksycznym oddziaływaniu policyklicznych węglowodorów aromatycznych na mikroglony *Scenedesmus*. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 496: 439-448.
- 4) **Aksmann A.**, Tukaj Z. 2004. The effect of anthracene and phenanthrene on the growth, photosynthesis and SOD activity of green alga *Scenedesmus armatus* depend on the PAR irradiance and CO<sub>2</sub> level. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 47: 177-184.
- 5) Tukaj Z., **Aksmann A.**, 2007. Toxic effects of anthraquinone and phenanthrenequinone upon *Scenedesmus* strains (green algae) at low and elevated concentration of CO<sub>2</sub>. *Chemosphere* 66: 480-487.

W cyklu pięciu wymienionych powyżej publikacji przedstawiono wyniki badań dotyczące fizjologicznych i strukturalnych skutków działania policyklicznych substancji aromatycznych na jednokomórkowe zielenice planktonowe. W pierwszej serii badań wykorzystana została mieszanina policyklicznych węglowodorów aromatycznych (PAH), w postaci wodnego ekstraktu oleju napędowego (**pozycja nr 1**). U wrażliwego na działanie PAH szczepu *Desmodesmus* (wcześniej *Scenedesmus*) *microspina* traktowanego ekstraktem olejowym zaobserwowano zmiany ultrastrukturalne, polegające przede wszystkim na zwiększeniu powierzchni komórki, silnej wakuolizacji, wzroście łącznej objętości mitochondriów i zmniejszeniu się objętości chloroplastu i jądra komórkowego. U niewrażliwego szczepu *Scenedesmus quadricauda* zmiany te były o wiele słabiej zaznaczone, a w przypadku jądra komórkowego i frakcji mikrosomalnej zaobserwowano nawet wzrost objętości tych organelli w porównaniu z kontrolą. Zmiany te sugerowały, że u szczepów wrażliwych na działanie węglowodorów aromatycznych następują poważne zmiany w przebiegu kluczowych dla komórki roślinnej procesów: oddychania i fotosyntezy.

Ponieważ działanie oleju napędowego jest wypadkową toksycznego wpływu wielu różnorodnych substancji, do kolejnych badań, skupionych już na fizjologii komórki (**pozycje nr 2 – 4**), wybrano dwa ropopochodne węglowodory aromatyczne, antracen (ANT) i fenantren (PHE), znane ze swojej toksyczności względem organizmów roślinnych (Huang i wsp. 1993). Ze względu na fakt, iż obydwie wspomniane węglowodory zdolne są do absorpcji promieniowania słonecznego, prowadzone prace koncentrowały się głównie na zagadnieniu udziału promieniowania fotosyntetycznie czynnego (PAR) oraz UV-B w toksyczności ANT i PHE, czyli na oszacowaniu znaczenia procesów fotouwrażliwiania (wpływ PAR) i fotomodyfikacji (wpływ UV-B) w oddziaływaniu PAH na glony. Z uwagi na to ostatnie zjawisko, w badaniach uwzględniono także główne fotoprodukty badanych węglowodorów: odpowiednio antrachinon (ANTQ) i fenantrenochinon (PHEQ) (**pozycja nr 5**).

Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić, iż w odniesieniu do zielenic planktonowych z rodzaju *Desmodesmus* (dawniej *Scenedesmus*) ANT jest czterdziestokrotnie bardziej toksyczny niż PHE, co wynikało z zależnego od natężenia PAR fotouwrażliwiającego działania antracenu. Co ciekawe, fotomodyfikacja ANT za pomocą UV-B obniżała znacząco jego toksyczność. Było to spowodowane niemal dwukrotnie mniejszą toksycznością jego głównego fotoproduktu, antrachinonu. Przeciwnie wyniki uzyskano porównując działanie PHE z działaniem jego fotoproduktu (PHEQ), który okazał się sto razy bardziej toksyczny niż jego węglowódor macierzysty. I tym razem przyczyną wysokiej toksyczności badanej substancji okazały się jej fotouwrażliwiające własności. Analiza parametrów fotosyntetycznych w komórkach glonów traktowanych ANTQ i PHEQ wykazała, że jednym z powodów toksyczności ww. chinonów jest inhibicja przepływu elektronów w łańcuchu fotosyntetycznym. Bardzo ciekawy wynik uzyskano porównując wpływ ANTQ i PHEQ na dwa blisko spokrewnione szczepy *Desmodesmus*. Okazało się, że ich różna wrażliwość na działanie badanych substancji wynikała między innymi z niejednakowej aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w komórkach, a więc wiązała się silnie z tolerancją organizmu na stres oksydacyjny.

#### Literatura

1. Huang X-D., Dixon D.G., Greenberg B.M. 1993. Impacts of UV radiation and photomodification on the toxicity of PAHs to the higher plant *Lemna gibba* (Duckweed). Environ. Toxicol. Chem. 12: 1067-1077.

5.1.2. Zakres tematyczny: zastosowanie metabolomiki w badaniach aklimatyzacji *Chlamydomonas reinhardtii* do niskiego stężenia CO<sub>2</sub>.

- 1) Renberg L., Johansson A. I., Shutova T., Stenlund H., Aksmann A., Raven J. A., Gardeström P., Moritz T., Samuelsson G., 2010. A metabolomic approach to study major metabolite changes during acclimation to limiting CO<sub>2</sub> in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* 154(1): 187-196.

*Chlamydomonas reinhardtii* jest jedną z zielenic planktonowych posiadających mechanizm zatężania węgla nieorganicznego w komórce (CCM, carbon-concentrating mechanism), który uruchamiany jest w warunkach niedoboru CO<sub>2</sub> w otoczeniu (Giordano i wsp. 2005). Indukcja CCM obejmuje zmiany ekspresji dziesiątek genów, co udowodniono w licznych badaniach (patrz np. (Miura i wsp. 2004; Yamano i wsp. 2008; Yamano i Fukuzawa 2009), jednak wiedza o zachodzących w tym samym czasie zmianach metabolicznych była wciąż mocno ograniczona. Opisanie w pracy Renberg i wsp. (2010) badania, w których uczestniczyłam podczas dwóch moich pobytów w Umea Plant Science Center (Szwecja), miały na celu zbadanie zmian poziomu kluczowych dla komórki metabolitów w czasie indukcji CCM. Wykorzystanie techniki GC-TOFMS (gas chromatography-time of flight mass spectrometry) pozwoliło wskazać 128 metabolitów (aminokwasów, lipidów, węglowodanów), których poziom znacząco zmieniał się po przeniesieniu komórek do warunków niedoboru CO<sub>2</sub>. Otrzymane wyniki metabolomiczne okazały się dobrze pasować do opisanych przez Yamano i wsp. (2008) danych transkryptomicznych, mówiących o związku indukcji CCM z przejściową stymulacją fotorespiracji, co pozwoliło nam zaproponować model regulacji zmian metabolicznych zachodzących w komórkach *C. reinhardtii* podczas aklimatyzacji do niskiego stężenia CO<sub>2</sub> w środowisku.

*Literatura*

1. Giordano M., Beardall J., Raven J.A. 2005. CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56: 99–131.
2. Miura K., Yamano T., Yoshioka S., Kohinata T., Inoue Y., Taniguchi F., Asamizu E., Nakamura Y., Tabata S., Yamato K.T., et al. 2004. Expression profiling-based identification of CO<sub>2</sub>-responsive genes regulated by CCM1 controlling a carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* 135: 1595–1607.
3. Yamano T., Fukuzawa H. 2009. Carbon-concentrating mechanism in a green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*, revealed by transcriptome analyses. *J. Basic Microbiol.* 49: 42–51.
4. Yamano T., Miura K., Fukuzawa H. 2008. Expression analysis of genes associated with the induction of the carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* 147: 340–354.

5.1.3. Zakres tematyczny: czynniki wpływające na przebieg cyklu komórkowego zielenic planktonowych.

- 1) Grabski K., Aksmann A., Mucha P., Tukaj Z., 2010. Conditioned medium factor produced and released by *Desmodesmus subspicatus* and its effect on the cell cycle of the producer. *J. Appl. Phycol.* 22 (4): 517 - 524.
- 2) Pokora W., Aksmann A., Baścik-Remisiewicz A., Dettlaff-Pokora A., Rykaczewski M., Gappa M., Tukaj Z., 2016. Changes in nitric oxide/hydrogen peroxide content and cell cycle progression: study with synchronized cultures of green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Plant Physiol.* doi: 10.1016/j.jplph.2016.10.008

Cykl komórkowy to sekwencja procesów zachodzących w komórce pomiędzy dwoma następującymi po sobie podziałami mitotycznymi. Procesy te składają się na fazę wzrostową oraz reprodukcyjną, a regulowane są zarówno przez wewnątrzkomórkowy rytm okołodobowy, jak i przez czynniki środowiskowe (Cross i Umen 2015). Modyfikacja przebiegu cyklu komórkowego zielenic planktonowych (skrócenie lub wydłużenie) lub jego zatrzymanie nastąpić może w odpowiedzi na takie bodźce środowiskowe jak zmiany natężenia i czasu działania światła, fluktuacje temperatury lub obecność substancji chemicznych o charakterze toksyn lub stymulatorów wzrostu. Część z tych substancji produkowana jest przez komórki glonów.

Zielenice planktonowe rosnące zarówno w naturalnych warunkach, jak i w warunkach laboratoryjnych, produkują i wydzielają do podłoża hodowlanego różnorakie substancje organiczne, a podłoże takie, uzyskane po usunięciu z niego komórek glonów, nazywane jest podłożem kondycjonowanym (CM, conditioned medium). CM dodany w odpowiednich proporcjach do wyjściowej (bazowej) pożywki hodowlanej zmieniać może jej własności, m.in. wpływając na specjację metali i obniżając toksyczność substancji chemicznych (Lombardii i wsp. 2005; Torelli i wsp. 2008). Istnieją także doniesienia, że CM zawierać może substancje o charakterze stymulatorów wzrostu (Sakamoto i wsp. 1996), choć substancje te nie zostały jak dotąd wyizolowane i opisane. W badaniach opisanych w pracy Grabskiego i wsp. (2010) (**pozycja nr 1**) zastosowane zostały zarówno asynchroniczne, jak i synchroniczne kultury jednokomórkowej zielenicy *Desmodesmus subspicatus*, co umożliwiło zbadanie stymulacyjnych własności CM na tle cyklu komórkowego tego organizmu. Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić, że CM dwukrotnie rozcieńczony pożywką hodowlaną (oznaczony jako CM/2) silnie

stymuluje wzrost populacji *D. subspicatus*. Analiza parametrów fluorescencji chlorofilu *a in vivo* oraz tempa wydzielania tlenu fotosyntetycznego pozwoliła wykazać, że prawdopodobną przyczyną powyższego zjawiska jest zwiększenie wydajności procesów fotosyntetycznych w komórkach rosnących na CM/2. Skutkiem tego był szybszy wzrost komórek. Dzięki temu w hodowlach rosnących w CM/2 zwiększał się odsetek komórek, które w czasie cyklu komórkowego przechodziły nie trzy, ale cztery punkty kompetencyjne (podziałowe), wskutek czego uwalniały szesnaście, a nie osiem komórek potomnych. Końcowym efektem takiej sekwencji zdarzeń była większa liczebność populacji CM/2 w stosunku do populacji kontrolnej, rosnącej na bazowej pożywce hodowlanej.

W przebiegu cyklu komórkowego zielenic planktonowych, tak jak wszystkich komórek roślinnych, kluczowym elementem są kaskady sygnałowe prowadzące do aktywacji odpowiednich czynników transkrypcyjnych. Częsteczkami sygnałowymi w tych kaskadach są m.in. nadtlenek wodoru i tlenek azotu, których działanie moduluje kaskady sygnałowe regulujące syntezę cyklin (CYC) i cyklinozależnych kinaz (CDK), umożliwiających przechodzenie komórki przez kolejne fazy cyklu. Ponieważ aktywność enzymów odpowiedzialnych za powstawanie  $H_2O_2$  (dysmutaza ponadtlenkowa, SOD) i NO (reduktaza azotanowa, NR i reduktaza azotynowa, NIR) w komórkach glonów podlega oscylacjom dobowym (Carvalho i wsp. 2004, Lehner i wsp. 2009), wydaje się, że zmiana stężenia i proporcji  $H_2O_2/NO$  jest jednym z elementów regulacji przebiegu cyklu komórkowego. Aby zweryfikować tę hipotezę, zbadano zmiany aktywności SOD, NR i NIR oraz zmiany stężenia  $H_2O_2$  i NO zachodzące w przebiegu cyklu komórkowego *Chlamydomonas reinhardtii* (**pozycja nr 2**). Stwierdzono, że wzrost stężenia  $H_2O_2$  obserwowany na początku cyklu, to wynik działania chloroplastowych izoform Fe-SOD i Mn-SOD. Ich aktywność wzrastała w chwili pojawienia się w komórce oznak stresu oksydacyjnego, związanego z rozpoczęciem procesu fotosyntezy u młodych komórek potomnych przeniesionych z ciemności na światło. Z kolei gwałtowny wzrost stężenia NO bezpośrednio przed przejściem komórek z jasnej do ciemnej fazy cyklu, wynikał ze wzmożonej aktywności NR i NIR. Zaobserwowano, że wspomnianemu wzrostowi stężenia NO towarzyszył niezależny od fotosyntezy wzrost aktywności chloroplastowej izoformy Mn-SOD, którego wynikiem była wzmożona produkcja  $H_2O_2$ . Był to jednocześnie moment rozpoczęcia



podziałów komórek, co zostało potwierdzone dzięki analizie profilu ekspresji genów kodujących CYC i CDK. Wyniki powyższe wyraźnie wskazują na istnienie ścisłej zależności pomiędzy przebiegiem cyklu komórkowego *Chlamydomonas*, a zmianami wewnątrzkomórkowego stężenia H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i NO, co z kolei związane jest z fluktuacjami ekspresji i aktywności enzymów odpowiedzialnych za powstawanie i neutralizację tych cząsteczek sygnałowych.

#### Literatura

1. Carvalho A.M., Neto A.M., Tonon A.P., Pinto E., Cardozo K.H., Brigagao M. R., Guaratini T. 2004. Circadian protection against oxidative stress in marine algae. *Hypnos* 1, 142-57.
2. Cross F.R., Umen J.G. 2015. The *Chlamydomonas* cell cycle. *The Plant J.* 82: 370-392.
3. Lehner C., Kerschbaum H. H., Lütz-Meindl U. (2009). Nitric oxide suppresses growth and development in the unicellular green alga *Micrasterias denticulata*. *J. Plant Physiol.* 166(2): 117-127.
4. Lombardii A.T., Hidalgo T.M.R., Viera A.A.H. 2005 Copper complexing properties of dissolved organic materials exuded by the freshwater microalgae *Scenedesmus acuminatus* (Chlorophyceae). *Chemosphere* 60:453–459.
5. Sakamoto B., Nagai H., Hokama Y. 1996 Stimulators of *Gambierdiscus toxicus* (Dinophyceae) growth: the possible role of gambieric acid-A as an endogenous growth enhancer. *Phycologia* 35:350–353.
6. Torelli A., Marieschi M., Castagnoli B., Zanni C., Gorbi G., Corradi G.M. 2008. Identification of *S2-T A63*: a cDNA fragment corresponding to a gene differentially expressed in a Cr-tolerant strain of the unicellular green alga *Scenedesmus acutus*. *Aquat Toxicol* 86:495–507.

#### 5.1.4. Zakres tematyczny: wpływ warunków troficznych na funkcjonowanie fotosyntetycznych mutantów zielenicy *Scenedesmus obliquus*.

- 1) Pokora W., Aksmann A., Tukaj Z. 2011. Functional characteristics of green alga *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae): 276-6 wild type and its two photosystems deficient mutants cultured under photoautotrophic, mixotrophic and heterotrophic conditions. *Phycol. Res.* 59:259-268.

Mutanty zielenic planktonowych są obecnie powszechnie wykorzystywane w fizjologicznych, biochemicznych i molekularnych badaniach komórek roślinnych (Ochiai i wsp. 2007, Harris 2009). Organizmy te mogą być również użyteczne w badaniach toksykologicznych, umożliwiając precyzyjne określenie miejsca działania toksykantów na poziomie fizjologicznym i/lub molekularnym. Takim potencjalnym narzędziem wydają się być mutanty *Scenedesmus obliquus*, posiadające dysfunkcjonalne fotosystemy PS I i PS II (Pratt i Bishop 1968). Wykorzystanie takich mutantów eliminuje konieczność stosowania sztucznych inhibitorów fotosyntezy, co zapobiega możliwym interakcjom pomiędzy inhibitorami, a

badanymi substancjami. Żeby jednak możliwe było wykorzystanie takich dysfunkcyjnych organizmów do badań, ich fizjologia i biochemia musi być dokładnie poznana, dlatego celem omawianej tu pracy było przedstawienie dokładnej charakterystyki funkcjonalnej szczepu dzikiego i dwóch mutantów fotosyntetycznych *S. obliquus*. Przeprowadzono analizę aktywności fotosyntetycznej i oddechowej ww. organizmów oraz aktywności kluczowego enzymu antyoksydacyjnego – dysmutazy ponadtlenkowej (SOD). Badania pozwoliły wykazać, że dla wszystkich trzech badanych szczepów optymalnymi warunkami wzrostu są warunki miksotroficzne. Co zaskakujące, obydwa mutanty fotosyntetyczne były zdolne do autotroficznego wzrostu pomimo niskiej zawartości chlorofilu i niskiej intensywności wydzielania tlenu fotosyntetycznego. Analiza krzywych indukcji fluorescencji chlorofilu *a* potwierdziła wysoki stopień dysfunkcyjności fotosystemu drugiego u mutantu PS II, jednak u mutantu PS I pewna frakcja fotosystemów I okazała się być aktywna. Co więcej, mutant PS I rósł w warunkach heterotroficznych dużo słabiej niż szczep dziki i mutant PS II, co wywołuje uzasadnione wątpliwości, czy mutacja u tego szczepu wpływa jedynie na aktywność fotosyntetyczną. Podsumowaniem uzyskanych w pracy wyników był więc wniosek, że o ile badany mutant PS II uznany być może za organizm z zablokowaną aktywnością fotosystemu II, o tyle mutant PS I powinien być rozpatrywany jedynie jako szczep o ograniczonej wydajności fotosystemu I.

#### Literatura

1. Ochiai T., Colman B., Matsuda Y. 2007. Acclimation of wild-type cells and CO<sub>2</sub>-insensitive mutants of the green alga *Chlorella ellipsoidea* to elevated CO<sub>2</sub>. *Plant Cell Environ.* 30: 944–51.
2. Harris E. H. 2009. *The Chlamydomonas Sourcebook. Vol. I: Introduction to Chlamydomonas and Its Laboratory Use.* Elsevier Academic Press, San Diego, CA.
3. Pratt L.H., Bishop N.I. 1968. Chloroplast reactions of photosynthetic mutants of *Scenedesmus obliquus*. *Biochim. Biophys. Acta* 153: 664–74.

### 5.2. Pozostałe przejawy aktywności naukowej

Wyniki moich badań prezentowałam, w formie posterów i referatów, uczestnicząc w **20 konferencjach naukowych**, zarówno krajowych, jaki międzynarodowych.

Uczestniczyłam w sumie w **11 projektach badawczych**, finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (2 granty), Uniwersytet Gdański (8 grantów) i Narodowe Centrum Nauki (1 grant). W siedmiu z tych projektów pełniłam rolę **kierownika**, wliczając w to grant NCN pt. "Rola ELIPs (early light induced proteins) w aklimatyzacji komórek *Chlamydomonas* do antropogenicznych zanieczyszczeń środowiska wodnego". Uczestniczyłam również w przygotowaniu **wniosku o uzyskanie zgody Ministra Środowiska na zamknięte użycie GMO** w Katedrze Fizjologii i Biotechnologii Roślin (decyzja nr 13/2014, nr w rejestrze: 01-102/2013).

Trzykrotnie otrzymałam **zespołową nagrodę Rektora Uniwersytetu Gdańskiego** za wieloautorski cykl publikacji naukowych.

W latach 2007 – 2013 sześciokrotnie przebywałam na krótkoterminowych **stażach naukowych** w Umea Plant Science Center (Umea, Szwecja), a w roku 2010 uczestniczyłam w **warsztatach naukowych** z zakresu zastosowania fluorescencji chlorofilu *a* w badaniach fizjologicznych, zorganizowanych przez Katedrę Molekularnej Fizjologii Roślin Uniwersytetu Warszawskiego.

W latach 2007 – 2016 wykonałam łącznie **30 recenzji** manuskryptów publikacji naukowych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

Szczegółowy opis moich osiągnięć naukowych, dydaktycznych i organizacyjnych znajduje się w osobnym załączniku.

