Dr Beata Hasiów-Jaroszewska

Instytut Ochrony Roślin-Państwowy Instytut Badawczy

Zakład Wirusologii i Bakteriologii

ul. Wł. Węgorka 20

60-318 Poznań

ZAŁĄCZNIK II

Autoreferat

„Genetyczne determinanty zmienności wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*) i ich potencjalna rola w patogenezie”

Poznań 2013

1. Dane personalne

Imię i nazwisko **Beata Hasiów-Jaroszewska**

Miejsce pracy Instytut Ochrony Roślin-Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Wirusologii i Bakteriologii
ul. Wł. Węgorka 20
60-318 Poznań

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

- **14.06.2004** – Wydział Biologii, kierunek biotechnologia, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

  stopień magistra

  praca magisterska pt. ,,Klonowanie i analiza sekwencji genu kodującego kinazę zależną od wapnia (CDPK9) u gatunków z rodziny *Brassicaceae*"

  promotor: prof. dr hab. Jan Sadowski

- **26.05.2009 –** Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu

  stopień doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii

  rozprawa doktorska pt. ,,Genetyczne zróżnicowanie oraz diagnostyka polskich izolatów wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*)" wyróżniona przez Prezesa Rady Ministrów oraz Dyrektora i Radę Naukową Instytutu Ochrony Roślin – PIB

  promotor: prof. dr hab. Henryk Pospieszny

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Przebieg pracy zawodowej			
Okres		Nazwa i adres pracodawcy	Stanowisko
od	do		
03.01.2005	31.12.2005	Instytut Ochrony Roślin, ul. Wł. Węgorka 20, Poznań	inżynier
01.01.2006	31.05.2009	Instytut Ochrony Roślin-Państwowy Instytut Badawczy,* ul. Wł. Węgorka 20, Poznań	asystent
01.06.2009	obecnie	Instytut Ochrony Roślin-Państwowy Instytut Badawczy, ul. Wł. Węgorka 20, Poznań	adiunkt

* Państwowy Instytut Badawczy od 2008 roku

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

„Genetyczne determinanty zmienności wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*) i ich potencjalna rola w patogenezie"

b) publikacje składające się na osiągnięcie naukowe

1. **Hasiów-Jaroszewska B**., Borodynko N., Jackowiak P., Figlerowicz M., Pospieszny H. 2011. Single mutation converts mild pathotype of the *Pepino mosaic virus* into necrotic one. Virus Research 159: 57-61. (**IF 2,941; MNISW 20)**

2. Hasiów-Jaroszewska B., Czerwoniec A., Pospieszny H., Elena S.F. 2011. Tridimensional model structure and patterns of molecular evolution of *Pepino mosaic virus* TGBp3 protein. Virology Journal 8 (318): 1-8. (**IF 2,343; MNISW 25)**

3. Hasiów-Jaroszewska B., Borodynko N. 2012. Characterization of the necrosis determinant of the European genotype of pepino mosaic virus by site-specific mutagenesis of an infectious cDNA clone. Archives of Virology 157: 337–341. (**IF 2,03; MNISW 20**)

4. Hasiów-Jaroszewska B., Komorowska B. 2013. A new method for detection and discrimination of *Pepino mosaic virus* isolates using high resolution melting analysis of the triple gene block 3. Journal of Virological Methods 193: 1-5. (**IF 1,90; MNISW 25**)

5. Hasiów-Jaroszewska B., Paeleman A., Ortega-Parra N., Borodynko N., Minicka J., Czerwoniec A., Thomma BPHJ, Hanssen IM. 2013. Ratio of mutated versus wild-type coat protein sequences in *Pepino mosaic virus* determines the nature and severity of yellowing symptoms on tomato plants. Molecular Plant Pathology DOI: 10.1111/mpp.12059 (**IF 3,877; MNISW 40**)

6. Hasiów-Jaroszewska B., Borodynko N. 2013. Detection of Pepino mosaic virus isolates from tomato by one-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. Archives of Virology DOI 10.1007/s00705-013-1706-7. (**IF 2,03; MNISW 20)**

Łącznie:

Impact factor – 15,121

Punkty MNISW- 150

Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie publikacji są zamieszczone w **Załączniku VII.**

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

Wirus mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*, PepMV) jest obecnie jednym z najgroźniejszych patogenów pomidora szklarniowego w wielu krajach. Jest on typowym reprezentantem wirusów z rodzaju *Potexvirus*, zarówno jeśli chodzi o organizację genomu, jak i morfologię cząstek wirusa. Po raz pierwszy został wyizolowany w Peru, z psianki melonowej (*Solanum muricatum*) w 1974 roku, przy czym izolat ten nie dawał żadnych objawów na roślinach pomidora (*Solanum lycopersicum*) (Jones i wsp. 1980). W roku 1999 w Holandii, z roślin pomidora pozyskano nowe izolaty powodujące objawy chorobowe i stwarzające zagrożenie dla upraw szklarniowych (van der Vlugt i wsp. 2000). W krótkim czasie występowanie PepMV stwierdzono w wielu krajach Europy, w Ameryce Południowej i Północnej oraz Chinach (French i wsp. 2001; Jordá i wsp. 2001; Pospieszny i wsp. 2003; Maroon-Lango i wsp. 2005; Ling 2007). Wirus przenosi się bardzo łatwo mechanicznie, a także z materiałem nasiennym (Hanssen i wsp. 2010). Ze względu na swoją szkodliwość, łatwość rozprzestrzenia się i straty, jakie powoduje w ilości i jakości plonu został on umieszczony na liście alertowej EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization – Europejska i Śródziemnomorska Organizacja Ochrony Roślin) (Spence i wsp. 2006). Genom PepMV składa się z pojedynczej nici RNA o długości około 6400 nt zawierającej pięć otwartych ramek odczytu kodujących: RNA zależną RNA polimerazę, blok trzech białek odpowiedzialnych za przemieszczanie się wirusa w roślinie (ang. triple gene block, TGBp1-3) oraz białko płaszcza.

Opisane dotąd izolaty PepMV różnią się genetycznie, co było podstawą wyodrębnienia czterech genotypów wirusa: peruwiańskiego (LP), europejskiego (EU), amerykańskiego 1 (US1/CH1) oraz chilijskiego 2 (CH2) (Hanssen, Thomma 2010). Przez wiele lat izolaty należące do genotypu EU dominowały w Europie. Od roku 2005 dominującym genotypem jest CH2, który często występuje w mieszanej infekcji z EU

(Hanssen i wsp. 2008). W Polsce również dominują izolaty z grupy CH2, aczkolwiek odnotowywano również obecność innych genotypów. Prowadzone na szeroką skalę badania nad wirusem mozaiki pepino pozwoliły wykazać między izolatami istotne różnice zarówno genetyczne, jak i dotyczące objawów powodowanych na roślinach i zasięgu roślin żywicielskich (Pospieszny i wsp. 2008; Hasiów-Jaroszewska i wsp. 2009b). Zmienność genetyczna PepMV i jego potencjalna zdolność do tworzenia nowych wariantów genetycznych na drodze mutacji punktowych bądź rekombinacji, może mieć istotny wpływ na diagnostykę tego patogena oraz rozwijanie metod jego kontroli i ograniczania rozprzestrzeniania. Uzyskanie w 2009 infekcyjnych kopii wirusa (Hasiów-Jaroszewska i wsp. 2009a) i wykorzystanie techniki ukierunkowanej mutagenezy umożliwiło rozpoczęcie zakrojonych na szeroką skalę badań nad identyfikacją i analizą genetyczną nowopowstających w naturze patotypów wirusa. Celem prowadzonych badań była identyfikacja genetycznych determinant odpowiedzialnych za rozwój określonego typu symptomów na roślinach oraz ich wpływu na właściwości biologiczne wirusa, a także opracowanie nowych metod pozwalających na szybką weryfikację obecności różnych wariantów wirusa w roślinie.

W obrębie genotypu CH2 stwierdziliśmy występowanie trzech patotypów wirusa, powodujących różnego typu objawy na infekowanych roślinach pomidora: łagodny, często niepowodujący objawów na roślinach (PepMV-P22), nekrotyczny – wywołujący nekrozy na roślinach (PepMV-P19) oraz żółtaczkowy (PepMV-P5), który powoduje żółte zabarwienie blaszki liściowej. W pierwszym etapie badań analizowano sekwencje łagodnych i nekrotycznych izolatów PepMV, pod kątem polimorfizmu pojedynczych nukleotydów, które odróżniają je od siebie i mogą wpływać na obserwowane symptomy. Sekwencje zdeponowano w Banku Genów pod numerami: HQ650559 i HQ650560. Analiza pełnych sekwencji genomów wykazała wysoki stopień podobieństwa genetycznego między izolatami (99%) i nieliczne mutacje niesynonimiczne [11 w genie kodującym RNA zależną RNA polimerazę (RdRp) oraz 1 w genie kodującym jedno z białek odpowiedzialnych za przemieszczanie wirusa w roślinie (TGB3)], które zmieniały sekwencję kodowanych aminokwasów. Szczególnie interesująca była zmiana zidentyfikowana w genie TGB3, gdzie pojedyncza substytucja w kodonie $A_{199}AA$ izolatów łagodnych na $G_{199}AA$ u nekrotycznych powodowała zmianę zasadowej lizyny (K) w kwas glutaminowy (E) w pozycji 67 białka. Była to jedyna zmiana, która została zidentyfikowana u wszystkich analizowanych izolatów nekrotycznych. W celu sprawdzenia czy zmiana ta jest odpowiedzialna za obserwowane symptomy przeprowadzono reakcje ukierunkowanej mutagenezy. W pierwszym etapie

skonstruowano infekcyjne kopie obu izolatów PepMV-P19 i PepMV-P22, zgodnie z procedura opisaną przez Hasiów-Jaroszewska i wsp. 2009a. Plazmidy niosące cDNA odpowiadające RNA wirusa posłużyły jako matryce do reakcji ukierunkowanej mutagenezy. Zaprojektowano odpowiednie startery i stworzono kolekcję mutantów wirusa wprowadzając mutacje punktowe do genów kodujących TGB3 oraz RdRp. Z tak uzyskanych konstruktów otrzymano infekcyjne RNA, które posłużyły do zainfekowania roślin pomidora oraz bielunia (*Datura inoxia)*. Badania wykazały, że pojedyncza mutacja zlokalizowana w genie TGB3 wpływa na rozwój nekrotycznych symptomów na roślinach pomidora oraz specyficznych, lokalnych, nekrotycznych plam na *D. inoxia.* Mutacje wprowadzone w genie kodującym RdRp nie wpływały na symptomy. Analiza akumulacji białka płaszcza wirusa w roślinach zainfekowanych mutantami PepMV-P22-K67E oraz PepMV-P19-E67K wykonana za pomocą techniki western blot nie wykazała korelacji między nasileniem objawów a akumulacją wirusa. Wyniki z tych badań zostały opublikowane w **publikacji nr 1** (Hasiów-Jaroszewska i wsp. 2011a).

Zidentyfikowanie determinanty powodującej rozwój nekrotycznych symptomów na roślinach w genie TGB3 zrodziło pytanie o rolę białka TGBp3 w procesie infekcji, jego strukturę przestrzenną oraz rodzaj presji selekcyjnej działającej na poszczególne aminokwasy. Sekwencje nukleotydów genu TGB3 izolatów powodujących różne objawy chorobowe na roślinach oraz pochodzących z różnych regionów geograficznych były analizowane z wykorzystaniem różnych narzędzi bioinfomatycznych. Sekwencje TGB3 zostały zweryfikowane pod kątem potencjalnego występowania rekombinacji w programie RDP i następnie użyte do analiz filogenetycznych. Zestawienia sekwencji wykonano przy użyciu programów MUSCLE oraz Pal2Nal. Skonstruowano odpowiednie drzewa filogenetyczne pozwalające na prześledzenie relacji filogenetycznych między izolatami wirusa. Następnie badano wpływ presji selekcyjnej na poszczególne kodony genu TGB3 wykorzystując serwer DATAMONKEY oraz programy: PAML 4.4 i SWAPSC. Za pomocą serwera ConSurf określono, które aminokwasy mogą pełnić strukturalną rolę w białku. Ponadto, po raz pierwszy udało się uzyskać model struktury trzeciorzędowej białka TGB3 i zlokalizować położenie aminokwasu 67 z wykorzystaniem algorytmu Rosetta. Analiza filogenetyczna potwierdziła znaczne różnice w sekwencjach genu TGB3 i wyraźny rozdział izolatów należących do genotypów CH2 i EU na drzewie filogenetycznym. Stwierdzono obecność mutacji w pozycji 199 typowej dla izolatów nekrotycznych u jednego z izolatów należących do genotypu europejskiego oznaczonego jako DB1. Analizy presji selekcyjnej wykazały, że TGB3 znajduje się głównie pod działaniem negatywnej presji selekcyjnej co wspiera hipotezę

o jego funkcjonalnej roli w trakcie infekcji. Modelowanie struktury trzeciorzędowej białka wykazało, że zarówno w przypadku białka TGB3 u genotypu CH2 (izolaty P19 oraz P22), jak i EU (izolat DB1) aminokwas 67 jest zlokalizowany na powierzchni białka i tym samym region ten może być zaangażowany w oddziaływania między białkami wirusa lub z białkami gospodarza. Wskazują na to również analizy presji selekcyjnej, które wykazały, że aminokwas ten znajduje się pod działaniem pozytywnej presji selekcyjnej. Za sprawą zmiany zasadowej lizyny w kwas glutaminowy następuje zmiana ładunku powierzchniowego cząsteczki. Wyniki tych badań przedstawiłam w **publikacji nr 2** (Hasiów-Jaroszewska i wsp. 2011b). Ponieważ izolaty nekrotyczne zostały opisane zarówno wśród izolatów należących do genotypu EU, jak i CH2, sugeruje to, że selekcja działa w kierunku powstawania izolatów bardziej wirulentnych. Ponieważ analizy struktury trzeciorzędowej TGB3 wykazały, że aminokwas 67 zlokalizowany jest na powierzchni białka w przypadku obu genotypów (EU i CH2) wirusa, badania kontynuowano na izolatach reprezentujących genotyp EU. Celem badań było sprawdzenie czy obserwowany mechanizm indukcji objawów nekrotycznych ma charakter uniwersalny, niezależny od genotypu wirusa. W pierwszym etapie uzyskano infekcyjne kopie łagodnego izolatu PepMV-P11 należącego do genotypu EU. Uzyskano również pełną sekwencję genomu izolatu PepMV-P11, która została zdeponowana w Banku Genów pod numerem JN133846. Analiza filogenetyczna wykazała, że izolat jest bardzo podobny do innych izolatów z grupy EU i dzieli z nimi 99-100% podobieństwa sekwencji nukleotydów. Uzyskane kopie (cDNA odpowiadające RNA wirusa) zostały następnie wykorzystane do badań z zastosowaniem techniki ukierunkowanej mutagenezy i wprowadzenia pojedynczych mutacji do genomu wirusa. Stworzono kolekcję mutantów wirusa z pojedynczymi zmianami w genie TGB3, a następnie uzyskano infekcyjne RNA, którym zainfekowano rośliny pomidora oraz *D. inoxia*. Tylko warianty z mutacją K67E w TGBp3 powodowały rozwój nekrotycznych symptomów na roślinach. Badania wykazały, że mutacja K67E w TGBp3 determinuje rozwój nekrotycznych symptomów na roślinach niezależnie od genotypu wirusa. Wyniki te opisałam w **publikacji nr 3** (Hasiów-Jaroszewska, Borodynko 2012).

Izolaty nekrotyczne stanowią poważne zagrożenie dla upraw pomidora, ponieważ często w wyższych temperaturach nie powodują objawów na roślinach. Typowe objawy porażenia wirusem, w formie nekroz, rozwijają się w niższych temperaturach 20°C-22°C. Przyczynia się to często do zbyt późnego wykrycia wirusa w uprawie i strat w ilości, i jakości plonu. Ustalenie genetycznej determinanty odpowiedzialnej za powstawanie objawów nekrotycznych umożliwiło mi opracowanie techniki opartej na reakcji łańcuchowej

polimerazy w czasie rzeczywistym (real-time RT-PCR) z analizą krzywej topnienia (high resolution melting - HRM). Opracowana metoda pozwala na rozróżnienie izolatów nekrotycznych od łagodnych na podstawie pojedynczej mutacji w genie TGB3. Zaprojektowano specyficzne startery PepVF1/PepVR1 oraz PepVF2/ PepVR1 amplifikujące fragment genu TGB3 wirusa zawierającego mutację, o wielkości odpowiednio 88 i 128 nt. Następnie przeprowadzono reakcję real-time PCR, przy użyciu zestawu High Resolution Master Mix (Roche) w aparacie Light Cycler 480 II (Roche). Badania wykazały, że zastosowanie starterów PepVF1/PepVR1 pozwala na otrzymanie krzywych topnienia o wyraźnie różnych temperaturach, co pozwala na identyfikację danego izolatu. Do badań wykorzystano izolaty łagodne i nekrotyczne z Polski, i Belgii z genotypu CH2, który obecnie jest dominujący w Europie i Ameryce. We wszystkich przypadkach udało się z powodzeniem zweryfikować i rozróżnić izolaty łagodne od nekrotycznych. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że opracowana metoda pozwala w szybki i czuły sposób określić typ izolatu PepMV. Wyniki prac przedstawiłam w **publikacji nr 4** (Hasiów-Jaroszewska, Komorowska 2013).

W latach 2010-2013 odnotowaliśmy nasilone występowanie nowego patotypu wirusa, powodującego silne żółtaczkowe objawy na roślinach pomidora. W pierwszym etapie badań uzyskano pełne sekwencje genomu trzech izolatów żółtaczkowych PepMV P1, P3 i P5. Analiza porównawcza sekwencji wykazała, że izolaty należą do genotypu CH2. W celu wyłonienia mutacji odróżniających izolaty żółtaczkowe od pozostałych przeprowadziłam analizę polimorfizmu pojedynczego nukleotydu dla pięciu genów wirusa kodujących: polimerazę, TGB1-3 związanych z przemieszczaniem wirusa w roślinie oraz białko płaszcza. W genie kodującym białko płaszcza stwierdzono obecność mutacji $G_{463}AA$ do $A_{463}AA$ zmieniającą kwas glutaminowy występujący u innych izolatów na lizynę, w przypadku wszystkich trzech izolatów żółtaczkowych (E155K). Była to jedyna zidentyfikowana mutacja, która powtórzyła się w przypadku wszystkich trzech izolatów żółtaczkowych, a która odróżniała je od pozostałych opisanych do tej pory. Sekwencja jednego z izolatów oznaczonego jako P-5-IY (IY-interveinal yellowing) została zamieszczona w Banku Genów pod numerem: JX417070. W kolejnym etapie uzyskano infekcyjną kopię izolatu żółtaczkowego co umożliwiło manipulację genomem wirusa i sprawdzenie czy zidentyfikowana mutacja jest odpowiedzialna za obserwowane symptomy. Z kilkunastu testowanych klonów, tylko w jednym przypadku udało się uzyskać infekcyjny RNA, który został wykorzystany do dalszych analiz ($P\text{-}5\text{-}IY_{flc}$). Prace były prowadzone równolegle z zespołem z Scientia Terrae Research Institute, Belgia. W Belgii i Francji zaobserwowano

występowanie dwóch typów objawów: 1) żółtaczki obejmujące całe blaszki liściowe (oznaczone w publikacji jako IY); 2) rozproszone, w postaci silnej mozaiki (oznaczone w publikacji jako SM). W pierwszym przypadku w zainfekowanych roślinach wykazujących objawy żółtaczkowe zidentyfikowano warianty wirusa z mutacją 155 w białku płaszcza. W niektórych próbach stwierdzono jednak warianty z inną zmianą w genie kodującym białko płaszcza $GA_{497}T$-$GG_{497}T$ prowadzącą w konsekwencji do zmiany kwasu asparaginowego w glicynę (D166G). W celu weryfikacji czy mutacje te mają wpływ na symptomy, stworzono kolekcję mutantów wirusa, wykorzystując izolat łagodny P-22 (E155) oraz żółtaczkowy P-5-IY (K155). RNA uzyskanym z poszczególnych konstruktów infekowano mechanicznie rośliny pomidora następujących odmian: Moneymaker, Beta Lux, Malinowy Ożarowski i Tricia. Badania wykazały, że obie mutacje (E155K oraz D166G) są odpowiedzialne za rozwój żółtaczkowych objawów na roślinach pomidora wszystkich testowanych odmian. Analiza struktury trzeciorzędowej białka płaszcza wykonana z wykorzystaniem algorytmu Rosetta wykazała, że zarówno aminokwas 155, jak i 166 są zlokalizowane na powierzchni białka i tym samym mogą odgrywać rolę w oddziaływaniach białko-białko. W przypadku silnej mozaiki stwierdziliśmy, że o tym typie symptomów decyduje występowanie obu wariantów wirusa jednocześnie w roślinie, zarówno dzikiego (E155), jak i z mutacją (K155). Hipoteza ta została potwierdzona poprzez zainfekowanie roślin transkryptami RNA (zmieszanymi w stosunku 1:1) otrzymanymi z P-5-IY_{flc}-/P-22_{flc}; P-22_{flc}/P-22_{flc}-CPE155K; P-5-IY_{flc}/P-5_{flc}-CPK155E. W każdym przypadku na roślinach wystąpiły objawy typu silnej, rozproszonej mozaiki.

Po okresie 2 miesięcy w szklarniach zaobserwowano interesujące zjawisko: na szczytach roślin z objawami obydwu typów (IY i SM) objawy żółtaczkowe zanikały. Rośliny pomidora zainfekowano więc różnymi wariantami wirusa, różniącymi się mutacją punktową w CP i zbadano akumulację wirusa w roślinach. Akumulacja wirusa w roślinach w różnych punktach czasowych (3, 5, 7, 14 i 28 dni po inokulacji) została zmierzona za pomocą techniki real-time PCR. Badania wykazały, że wszystkie warianty P-5-IY_{flc}, P-5_{flc}-CPK155E, P-22_{flc} i P-22_{flc}-CPE155K replikują w podobnym tempie. Oznaczało to, że zanikanie objawów na roślinach jest powodowane innym mechanizmem, nie związanym np. z szybszym tempem namnażania się któregoś z wariantów. Analiza sekwencji klonów CP otrzymanych ze szczytów roślin wykazała, że występują tam jedynie warianty dzikie (E155). Sugeruje to, że w trakcie infekcji zachodzi zjawisko mutacji wstecznej do genotypu dzikiego (K155E). Badania te potwierdzono infekując rośliny wyłącznie oczyszczonym RNA otrzymanym z P-5-

IY_{flc} powodującym objawy typu IY (z mutacją w pozycji 155). Po około 2 miesiącach na szczytach roślin zaobserwowano zanikanie objawów żółtaczkowych. Analiza sekwencji klonów CP otrzymanych z tych części roślin wykazała, że występują tam warianty bez mutacji w pozycji 155 (E155). Wskazuje to, że proces zanikania objawów związany jest z wystąpieniem wstecznej mutacji i następnie działaniem presji selekcyjnej faworyzującej warianty typu dzikiego w młodych częściach roślin. Wyniki tych prac zostały zaprezentowane w **publikacji nr 5** (Hasiów-Jaroszewska i wsp. 2013). Ze względu na występowanie odmiennych patotypów wirusa różniących się pojedynczymi nukleotydami i koniecznością szybkiej weryfikacji obecności wirusa w roślinach podjęłam się opracowania nowej metody diagnostycznej, która umożliwiałaby wykrywanie wszystkich izolatów wirusa reprezentujących różne genotypy w czasie krótszym niż godzina. Nowa metoda amplifikacji DNA polega na przeprowadzeniu reakcji w warunkach stałej temperatury z wykorzystaniem trzech par starterów (zewnętrzne, wewnętrzne i zapętlające) (ang. loop mediatel isothermal amplification, LAMP). Reakcja jest prowadzona w stałej temperaturze (np. w łaźni wodnej), nie wymaga więc drogiego sprzętu, jak do konwencjonalnej techniki RT-PCR. Ponadto, dodanie barwnika SYBR Green I do reakcji powoduje zmianę zabarwienia mieszaniny reakcyjnej z pomarańczowej na zieloną w przypadku wyniku pozytywnego i wykrycia wirusa, w związku z czym metoda nie wymaga wizualizacji produktów reakcji na żelu agarozowym. Specyficzne startery zostały zaprojektowane na podstawie zestawienia sekwencji rejonu TGB. Opracowano metodykę (odpowiednie stężenia starterów, ilość matrycy) oraz zoptymalizowano warunki reakcji, w efekcie czego wykrycie wirusa było możliwe w 30 minut niezależnie do badanego genotypu. Zbadano specyficzność reakcji przeprowadzając doświadczenia z wykorzystaniem prób porażonych innymi wirusami m. in. *Tomato black ring virus* i *Tomato torrado virus*. Testowano również czułość metody względem standardowego PCR używając do reakcji 10-krotnych rozcieńczeń plazmidu PepMV-P22. Analizy wykazały, że LAMP jest 10-krotnie czulszy niż standardowa reakcja PCR i możliwe jest wykrycie 1 pg/µl DNA. Metoda ta umożliwiała szybką weryfikację obecności wirusa w roślinach na wczesnych etapach infekcji co było niezwykle istotne w przypadku testowania roślin zainfekowanych RNA otrzymanym z infekcyjnych kopii i różnych wariantów PepMV. Opracowana metoda jest szybka i czuła, pozwala na wykrywanie wszystkich genotypów wirusa i może być z powodzeniem stosowana w diagnostyce wirusa. Wyniki przedstawiłam w **publikacji nr 6** (Hasiów-Jaroszewska, Borodynko 2013).

Podsumowując, po raz pierwszy w świecie zidentyfikowano determinanty w genomie PepMV, które odgrywają rolę w rozwoju symptomów na roślinach i prawdopodobnie mają wpływ na oddziaływania między wirusem a gospodarzem w trakcie infekcji. Wiedza ta pozwoli na rozpoczęcie prac nad stworzeniem integralnego modelu interakcji patogen-gospodarz, służącego jako platforma do rozwoju nowych technik ochrony roślin przed wirusem. Opracowane nowe, szybkie i czułe metody diagnostyczne mogą być z powodzeniem wdrożone w laboratoriach na całym świecie do wykrywania i różnicowania wariantów PepMV.

Cytowana literatura

1. French C.J., Bouthillier M., Bernardy M., Ferguson G., Sabourin M., Johnson R.C., Masters C., Godkin S., Mumford R. 2001. First Report of *Pepino mosaic virus* in Canada and the United States. Plant Dis. 85: 1121.

2. Hanssen I.M., Mumford R., Blystad D.G., Cortez I., Hasiów-Jaroszewska B., Dimitrinka H., Pagán I., Pereira A.M., Peters J., Pospieszny H., Ravnikar M., Stijger I., Tomassoli L., Varveri C., van der Vlugt R., Nielsen S.L. 2010. Seed transmission of *Pepino mosaic virus* in tomato. Eur. J. Plant Pathol. 126: 145–152.

3. Hanssen I.M., Paeleman A., Wittemans L., Goen K., Lievens B., Bragard C., Vanachter A.C.R.C., Thomma B.P.H.J. 2008. Genetic characterization of *Pepino mosaic virus* isolates from Belgian greenhouse tomatoes reveals genetic recombination. Eur. J. Plant Pathol. 121: 131–146.

4. Hanssen I.M., Thomma B. 2010. *Pepino mosaic virus*: a successful pathogen that rapidly evolved from emerging to endemic in tomato crops. Mol. Plant Pathol. 11: 179–189.

5. Hasiów-Jaroszewska B., Borodynko N. 2012. Characterization of the necrosis determinant of the European genotype of pepino mosaic virus by site-specific mutagenesis of an infectious cDNA clone. Archives of Virology 157: 337–341.

6. Hasiów-Jaroszewska B., Borodynko N. 2013. Detection of *Pepino mosaic virus* isolates from tomato by one-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. Archives of Virology DOI 10.1007/s00705-013-1706-7.

7. Hasiów-Jaroszewska B., Borodynko N., Jackowiak P., Figlerowicz M., Pospieszny H. 2011a. Single mutation converts mild pathotype of the *Pepino mosaic virus* into necrotic one. Virus Research 159: 57-61

8. Hasiów-Jaroszewska B., Paeleman A., Ortega-Parra N., Borodynko N., Minicka J., Czerwoniec A., Thomma BPHJ, Hanssen IM. 2013. Ratio of mutated versus wild-type coat protein sequences in *Pepino mosaic virus* determines the nature and severity of yellowing symptoms on tomato plants. Molecular Plant Pathology DOI: 10.1111/mpp.12059

9. Hasiów-Jaroszewska B., Borodynko N., Pospieszny H. 2009a. Infectious RNA transcripts derived from cloned cDNA of a Pepino mosaic virus isolate. Arch. Virol. 154: 853–856.

10. Hasiów-Jaroszewska B., Czerwoniec A., Pospieszny H., Elena S. 2011b. Tridimensional model structure and patterns of molecular evolution of *Pepino mosaic virus* TGBp3 protein. Virology Journal 8: 318-325.

11. Hasiów-Jaroszewska B., Pospieszny H., Borodynko N. 2009b. New necrotic isolates of *Pepino mosaic virus* representing Ch2 genotype. J. Phytopathol. 157 (7): 494–496.

12. Hasiów-Jaroszewska B., Komorowska B. 2013. A new method for detection and discrimination of *Pepino mosaic virus* isolates using high resolution melting analysis of the triple gene block 3. Journal of Virological Methods 193: 1-5.

13. Jones R.A.C., Koenig R., Lesemann D.E. 1980. Pepino Mosaic Virus a new potexvirus from pepino (Solanum muricatum). Ann. Appl. Biol. 94: 61–68.

14. Jordá C., Lázaro-Pérez A., Martínez-Culebras P.V., Abad-Campos P. 2001. First report of *Pepino mosaic virus* on tomato in Spain. Plant Dis. 85, p. 1292.

15. Ling K.S. 2007. Molecular characterization of two *Pepino mosaic virus* variants from imported tomato seed reveals high levels of sequence identity between Chilean and US isolates. Virus Genes 34: 1–8.

16. Maroon-Lango C.J., Guaragna M.A., Jordan R.L., Hammond J., Bandla M., Marquardt S.K. 2005. Two unique US isolates of Pepino mosaic virus from a limited source of pooled tomato tissue are distinct from a third (European – like) US isolate. Arch. Virol. 150: 1187–1201.

17. Pospieszny H., Borodynko N., Palczewska M. 2003 First record of *Pepino mosaic virus* in Poland. J. Plant Dis. Protect. 100, p. 97.

18. Pospieszny H., Hasiów B., Borodynko N. 2008 Characterization of two distinct Polish isolates of *Pepino mosaic virus*. Eur. J. Plant Pathol. 122: 443–445.

19. Spence N.J., Basham J., Mumford R.A., Hayman G., Edmondson R., Jones D.R. 2006 Effect on *Pepino mosaic virus* on the yield and quality of glasshouse-grown tomatoes in the UK. Plant Pathol. 55: 595–606.

20. van der Vlugt R.P.A., Stijger C.C.M., Verhoeven J.T.J., Lesemann D.E. 2000. First report of *Pepino mosaic virus* on tomato. Plant Dis. 84, p. 103.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

Przebieg działalności naukowej

Pracę w Zakładzie Wirusologii i Bakteriologii Instytutu Ochrony Roślin-Państwowego Instytutu Badawczego w Poznaniu rozpoczęłam w styczniu 2005 roku i do tej pory jestem zaangażowana w działalność badawczą w zespole prof. dr hab. Henryka Pospiesznego. Przez pierwszy rok byłam zatrudniona na stanowisku inżyniera i w tym czasie odbyłam dziewięciomiesięczny staż w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu, w Zespole Wirusologii Molekularnej Pracowni Biologii Molekularnej Roślin, pod kierunkiem prof. dr hab. Marka Figlerowicza gdzie zajmowałam się badaniami nad utajonym wirusem pierścieniowej plamistości truskawki (*Strawberry latent ringspot virus*). Badania nad zróżnicowaniem genetycznym oraz diagnostyką tego wirusa były przedmiotem mojego tematu statutowego prowadzonego w latach 2006-2007. Wyniki tych badań zostały opublikowane w pracach naukowych [IV.1.2, IV.2.1]. Po ukończeniu stażu w ICHB-PAN i przejściu na stanowisko asystenta rozpoczęłam prace związane z wirusem mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus,* PepMV), który jest poważnym zagrożeniem dla upraw pomidora

w Polsce i na świecie. Badania nad wirusem mozaiki pepino były przedmiotem mojej rozprawy doktorskiej zatytułowanej: „Genetyczne zróżnicowanie oraz diagnostyka polskich izolatów wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*)". Prace nad tym wirusem dotyczyły jego charakterystyki molekularnej, określenia jego właściwości biologicznych i serologicznych, a także opracowania skutecznych i czułych metod diagnostycznych [IV.1.5, IV.1.6, IV.2.2, IV.2.3, IV.2.5, IV.2.6, IV.2.9]. Badania dotyczyły również określenia zróżnicowania genetycznego wirusa [IV.1.6, IV.1.11], występowania zjawiska pseudogatunku [IV.1.17] oraz rekombinacji w populacji wirusa [IV.1.18]. Analizy przeprowadzono z użyciem szeregu programów bioinformatycznych oraz przy współpracy z zespołem bioinformatycznym Wageningen University z Holandii (dwutygodniowy staż naukowy) i Zespołem Wirusologii Molekularnej Pracowni Biologii Molekularnej Roślin, Instytutu Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk. Prace nad uzyskaniem pełnych sekwencji genomów różnych izolatów były prowadzone w ramach grantu promotorskiego [IV.1.5]. W ramach międzynarodowego projektu europejskiego PEPEIRA prowadziłam badania nad przenoszeniem wirusa mozaiki pepino przez nasiona [IV.1.14, IV.2.12]. Istotnym osiągnięciem było uzyskanie po raz pierwszy infekcyjnych kopii wirusa [IV.1.8], co umożliwiło manipulację jego genomem na drodze ukierunkowanej mutagenezy i dalsze bardziej zaawansowane badania nad jego zmiennością. W maju 2009 roku uzyskałam stopień doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii, a moja rozprawa doktorska została wyróżniona Nagrodą Prezesa Rady Ministrów. Badania prowadzone w trakcie realizacji mojej rozprawy doktorskiej zapoczątkowały zakrojone na szeroką skalę badania z wykorzystaniem PepMV jako modelu do analiz genetycznych uwarunkowań oddziaływań między wirusem a gospodarzem i genetycznych determinant zmienności wirusa będących przedmiotem mojej rozprawy habilitacyjnej. Prace nad tymi zagadnieniami prowadziłam jako kierownik trzech projektów badawczych finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNISW) oraz Narodowego Centrum Nauki (NCN).

W trakcie pracy w Zakładzie Wirusologii i Bakteriologii zajmowałam się również innymi wirusami porażającymi pomidora. Po raz pierwszy opisaliśmy nowy izolat utajonego wirusa oliwki (*Olive latent virus* 1), który infekował w warunkach naturalnych rośliny pomidora [IV.1.19, IV. 2.20]. Uzyskaliśmy pełną sekwencję genomu wirusa i porównaliśmy ją z innymi zdeponowanymi w Banku Genów [IV.1.21]. Zajmowaliśmy się ponadto wirusem Y ziemniaka (*Potato virus Y*) w kontekście występowania różnych jego szczepów na roślinach pomidora i potencjalnym zagrożeniu dla upraw pomidora zarówno gruntowego jak

i szklarniowego [IV.2.15]. Badania te są obecnie kontynuowane w ramach projektu z NCN „Preludium" ze względu na liczne wystąpienie wirusa w roku 2012 zwłaszcza na pomidorze gruntowym.

W latach 2005-2009 prowadziliśmy również badania nad występowaniem odglebowych wirusów buraka cukrowego (wirusa nekrotycznego żółknięcia nerwów buraka – *Beet necrotic yellow vein virus*, BNYVV; odglebowego wirusa buraka – *Beet soil-borne virus*, BSBV oraz wirusa Q buraka – *Beet virus Q*, BVQ) w Polsce [IV.1.1, IV.1.9]. Badania obejmowały wpływ odglebowego wirusa buraka na plon i zawartość cukru różnych odmian buraka cukrowego w warunkach polowych [IV.2.14]. W ramach prowadzonych badań opracowaliśmy serologiczne i molekularne testy diagnostyczne dla każdego z wirusów [IV.2.4, IV.2.11]. Badając zróżnicowanie genetyczne tych wirusów, po raz pierwszy w Polsce stwierdziliśmy występowanie typu B wirusa BNYVV [IV.1.10]. Uzyskaliśmy pełną sekwencję genomu wirusa BSBV i i stwierdziliśmy wpływ negatywnej presji selekcyjnej na regiony kodujące co skutkowało niewielką zmiennością w populacji wirusa [IV.1.12].

W latach 2007-2013 zajmowałam się również diagnostyką i zróżnicowaniem wirusów porażających uprawy cukinii w Polsce. Efektem prowadzonych prac było pierwsze wykrycie w Polsce nowych szczepów wirusa żółtej mozaiki cukinii (*Zucchini yellow mosaic virus*) odmiennych genetycznie od izolatów europejskich [IV.1.3], izolatów wirusa mozaiki arbuza (*Watermelon mosaic virus*) [IV.1.13, IV.2.21] oraz pierścieniowej plamistości papai [IV.1.16]. Badania nad ZYMV były następnie kontynuowane w ramach projektu z NCN dotyczącego molekularnej i biologicznej charakterystyki polskich izolatów tego wirusa. W ramach prowadzonych badań analizowano zakres roślin gospodarzy i symptomy wywoływane przez polskie izolaty ZYMV. Ponadto, przeprowadzono analizę filogenetyczną i przebiegu rekombinacji z wykorzystaniem sekwencji nukleotydów genu kodującego białko płaszcza polskich i 67 innych izolatów ZYMV, których sekwencje zdeponowano w Banku Genów. Badania wykazały, że polskie izolaty nie tylko różniły się od siebie w teście biologicznym, ale należą do różnych grup filogenetycznych oznaczonych jako A i B, nie tworząc tym samym jednej grupy z innymi izolatami europejskimi. Analiza presji selekcyjnej działającej na populację izolatów ZYMV wykazała dominację presji negatywnej, aczkolwiek zidentyfikowano również kodony, które mogą podlegać wpływowi pozytywnej presji selekcyjnej. Wyniki tych prac zostały opublikowane w kolejnych publikacjach [IV.1.28, IV.2.18].

W roku 2007 zidentyfikowaliśmy nowego patogena pomidora w warunkach Polski – wirusa nekrozy pomidora (*Tomato torrado virus*) [IV.1.4, IV.2.8], przenoszonego przez mączlika szklarniowego (*Trialeurodes vaporariorum*), który poraża rośliny pomidora powodując nekrotyczne objawy. Wirus został zakwalifikowany do nowoutworzonego rodzaju *Torradovirus.* Badania nad ToTV obejmowały analizę zakresu roślin żywicielskich, opracowanie metod diagnostycznych, analizy budowy i sekwencji genomu polskich izolatów oraz analizy filogenetyczne [IV.1.15, IV.2.7]. Ponadto zajmowaliśmy się przenoszeniem wirusa przez mączlika oraz nasiona pomidora [IV.2.25]. Badania wykazały wysoki stopień podobieństwa sekwencji genomowego RNA1 i RNA 2 między izolatami (98-100%). Wykonaliśmy również analizą zmian ultrastrukturalnych zachodzących w komórce podczas infekcji, które potwierdziły, że cząstki wirusa agregują w postaci kryształów, które były zlokalizowane w cytoplazmie i elementach sitowych [IV.1.27, IV.2.24].

W latach 2009-2013 zajmowałam się również defektywnymi formami RNA (D-RNA) związanymi z genomem wirusa czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (*Tomato black ring virus*), który poraża różne gatunki roślin uprawnych, drzewa oraz krzewy [IV.2.23]. Defektywne formy RNA zostały wyidukowane w trakcie wielokrotnego pasażowania wirusa w jednym gospodarzu - w komosie ryżowej. Badania te były prowadzone w ramach dwóch projektów z NCN. W ich wyniku zamplifikowano i zsekwencjonowano defektywne RNA izolatów pozyskanych z różnych roślin żywicielskich oraz określono, że powstały one na matrycy genomowego RNA w wyniku pojedynczej delecji w RNA1. Prześledzono miejsca rekombinacji prowadzące do powstania tych dodatkowych form RNA oraz analizowano ich potencjalnych wpływ na replikację wirusa pomocniczego [IV.1.32, IV.2.22]. Badania nad TBRV, oprócz natury i pochodzenia D-RNA, dotyczyły również zróżnicowania biologicznego i genetycznego izolatów pozyskanych z różnych roślin żywicielskich. Określiliśmy szczegółowy zakres roślin gospodarzy oraz rodzaj wywoływanych symptomów przez różne izolaty TBRV. Ponadto prześledziliśmy relacje filogenetyczne między poszczególnymi izolatami oraz określiliśmy korelację między pochodzeniem izolatu a jego pozycją na drzewie filogenetycznym [IV.1.32]. Planujemy kontynuację badań nad D-RNA w aspekcie ich potencjalnego zastosowania w ochronie roślin przed wirusem.

Uczestniczyłam również w badaniach nad wirusami pieczarek. Zidentyfikowaliśmy i opisaliśmy przyczynę choroby grzybów określanej jako La France [IV.1.20, IV.2.17]. Choroba powoduje bardzo duże straty w plonach ze względu na obniżenie jakości zbieranych pieczarek. Są one zdeformowane, mają mniejsze kapelusze i silnie wydłużone oraz często

wygięte trzonki. Dodatkowo nadmierny wzrost trzonka powoduje otwieranie się kapeluszy i szybsze ich brązowienie, a taki towar ma obniżoną wartość handlową. Wirus wywołujący chorobę ma cząstki izometryczne, stąd jego nazwa La France isometric virus (LIV).

W ramach współpracy z dr Beatą Komorowską z Instytutu Ogrodnictwa prowadziłam również badania nad zróżnicowaniem genetycznym i presją selekcyjną wpływającą na populację wirusa *Apple steam pitting virus* (ASPV). Wyniki tych badań zostały już częściowo opublikowane [IV.1.22]. Obecnie kontynuujemy współpracę w ramach wspólnego projektu badawczego z NCN dotyczącego molekularnej charakterystyki i zastosowania aptamerów do wykrywania wirusa ASPV.

W roku 2011 otrzymałam stypendium z European Molecular Biology Organization i odbyłam 3 miesięczny staż naukowy w Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (Institute for Plant Molecular and Cell Biology) w Walencji pod kierunkiem prof. Santiago Elena. W trakcie stażu zajmowałam się ewolucją molekularną i presją selekcyjną działającą na gen HC-Pro u wirusów z rodzaju *Potyvirus*. Analizy były prowadzone z wykorzystaniem licznych programów bioinformatycznych takich jak: RDP, PAML, SWAPSC, CAPS i obejmowały analizy występowania rekombinacji, wpływu presji selekcyjnej na poszczególne domeny białka HC-Pro i koewolucji różnych aminokwasów w białku. Obecnie kontynuuję współpracę z prof. Santiago Elena w ramach programu Mentoring z Fundacji na rzecz Nauki Polskiej i planujemy międzynarodowy grant badawczy „Harmonia".

W roku 2011 odbyłam również dwumiesięczny staż na Stanford University w ramach programu stażowo-szkoleniowego „TOP 500 Innovators - Science - Management – Commercialization". Program ma na celu podniesienie kwalifikacji polskich kadr sfery B+R w zakresie współpracy z gospodarką, zarządzania badaniami naukowymi oraz komercjalizacji ich wyników. Obecnie tematyką tą zajmuję się w ramach Stowarzyszenia TOP500 Innovators i planuję interdyscyplinarny projekt badawczo-rozwojowy mający na celu stworzenie innowacyjnego produktu pozwalającego na ochronę roślin przed chorobami wirusowymi. Pragnę również wdrożyć metodologię „design thinking" do programu naukowo-badawczego realizowanego w mojej jednostce naukowej.

Zestawienie dorobku publikacyjnego

Sumaryczny impact factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania: **56,797**

Sumaryczna liczba punktów według MNiSW: **976**

Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science: **77**

Index Hirscha według bazy Web of Science: **6**

Rodzaj publikacji	**Przed uzyskaniem stopnia doktora**	**Po uzyskaniu stopnia doktora**	**Ogółem**
1. Publikacje naukowe w czasopismach ze współczynnikiem wpływu (*Impact Factor,* IF) znajdujących się w bazie Journal Citation Reports	**7**	**27***	**34**
2. Pozostałe prace naukowe opublikowane w czasopismach umieszczonych w wykazie czasopism naukowych MNISW	**10**	**15**	**25**
3. Artykuły przeglądowe		**6**	**6**
4. Artykuły popularno-naukowe		**4**	**4**
5. Doniesienia konferencyjne	**14**	**52**	**66**
Ogółem	**31**	**104**	**135**

***** w tym 6 wchodzących w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego

Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach

2012-2015: UMO-2011/03/B/NZ9/01680 „Charakterystyka molekularna izolatów wirusa jamkowatości pnia jabłoni oraz zastosowanie aptamerów do ich wykrywania", Narodowe Centrum Nauki, **wykonawca projektu**

2013-2016: 2012/07/N/NZ9/01751 „Zróżnicowanie biologiczne i genetyczne polskich izolatów wirusa Y ziemniaka z pomidora oraz analiza presji selekcyjnej kształtującej populację wirusa", Narodowe Centrum Nauki, **wykonawca projektu**

2011-2014: 2011/01/D/NZ9/00279 SONATA „Molekularna ewolucja wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*) i jej wpływ na wirulencję wirusa", Narodowe Centrum Nauki, **kierownik projektu**

2011-2014: IP2011 017171 „Identyfikacja substytucji nukleotydowych warunkujących nowy, chlorotyczny patotyp wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*)", Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, **kierownik projektu**

2011-2013 20011/01/N/NZ9/03605 „Genetyczne zróżnicowanie oraz diagnostyka polskich izolatów wirusa czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (*Tomato black ring virus*) z roślin dyniowatych", Narodowe Centrum Nauki, **wykonawca projektu**

2010-2011: IP2010 012470 „Molekularne podstawy oddziaływania pomiędzy izolatami należącymi do genotypu europejskiego wirusa mozaiki pepino a gospodarzem", Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, **kierownik projektu**

2010-2013: N N 310163438 „Identyfikacja genów wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*) kodujących białka warunkujące zróżnicowanie wirulencji", Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, **kierownik projektu**

2011-2013, N N 310732040 „Przenoszenie i wykrywanie wirusa nekrozy pomidora (*Tomato torrado virus*) w nasionach, w aspekcie ograniczania jego występowania", Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, **wykonawca projektu**

2010-2013: N N310305339 „Molekularna charakterystyka defektywnych interferujących RNA wirusa czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (*Tomato black ring virus*)- w aspekcie nowych możliwości ochrony roślin przed wirusem", Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, **wykonawca projektu**

2009-2011: N N310088136 „Molekularna charakterystyka i diagnostyka polskich izolatów wirusa żółtej mozaiki cukinii (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV)", Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, **wykonawca projektu**

2007-2010: 6 Projekt Ramowy Unii Europejskiej PEPEIRA-FP6 044189 „*Pepino mosaic virus*: epidemiology, economic impact and pest risk analysis" projekt międzynarodowy, **wykonawca projektu**

2008-2009: N N 302312934 „Genetyczne zróżnicowanie oraz diagnostyka polskich izolatów wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*)", Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, **wykonawca projektu**

2006-2010: N31001731/1281 „Występowanie, diagnostyka i charakterystyka odglebowego wirusa buraka (*Beet soil-borne virus,* BSBV), nowego patogena buraka cukrowego w Polsce" Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, **wykonawca projektu**

<u>Międzynarodowe lub krajowe nagrody za działalność naukową</u>

2011-2014 Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych naukowców

2013 Nagroda Dyrektora IOR-PIB za publikacje ze współczynnikiem impact factor

2012 Nagroda Dyrektora IOR-PIB za publikacje ze współczynnikiem impact factor

2012 Nagroda Dyrektora IOR-PIB za poster prezentowany na 52. Sesji Naukowej IOR-PIB, 09.10-02. Poznań

2012-2014 Laureatka programu Mentoring z Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, mentor: prof. Santiago Elena z Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (Institute for Plant Molecular and Cell Biology), Walencja, Hiszpania

2011 laureatka programu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego ,,TOP 500 Innovators ,,Science-Management-Commercalization"

2011 Stypendium Fundacji na rzecz Nauki Polskiej ,,START" 2011 dla młodych naukowców

2011 Nagroda Dyrektora IOR-PIB za publikacje ze współczynnikiem impact factor

2010 stypendium wyjazdowe European Molecular Biology Organization ASTF 424-2010 na 3 miesięczny staż naukowy w Hiszpanii

2010 Nagroda Prezesa Rady Ministrów za rozprawę doktorską ,,Genetyczne zróżnicowanie oraz diagnostyka polskich izolatów wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*)"

2010 Stypendium Fundacji na rzecz Nauki Polskiej ,,START" 2010 dla młodych naukowców

2010 Nagroda Fundacji Członków Wydziału Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych Polskiej Akademii Nauk „Pro Scientia et Vita" dla młodego aktywnego naukowca

2010 Nagroda Dyrektora IOR-PIB za publikacje ze współczynnikiem impact factor

2009 Wyróżnienie Dyrektora i Rady Naukowej IOR-PIB za rozprawę doktorską: ,,Genetyczne zróżnicowanie oraz diagnostyka polskich izolatów wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*)"

2009 beneficjentka Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (stypendium konferencyjne edycja I 2009)

Wygłoszenie referatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych

1. **Hasiów-Jaroszewska B**., Jackowiak P., Borodynko N., Figlerowicz M., Pospieszny H. ,,Identyfikacja genów wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*) kodujących białka warunkujące zróżnicowanie wirulencji", XV Sympozjum Sekcji Wirusologicznej Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego oraz XXXVII Konferencja Grupy Roboczej Wirusów Roślin Komitetu Ochrony Roślin PAN. 09-10.09.2010, Poznań

2. **Hasiów-Jaroszewska B.,** Borodynko N., Pospieszny H. ,,Genetyczne uwarunkowania oddziaływań pomiędzy wirusem mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*) a gospodarzem" XIV Zwyczajne Walne Zgromadzenie Członków Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego oraz Sympozjum Naukowe ,,Fitopatologia: zdrowe rośliny-zdrowi ludzie", 20-22.09.2011, Bydgoszcz

3. **Hasiów-Jaroszewska B**, Byczyk J, Borodynko N, Rymelska N, Pospieszny H. 2012. „Ewolucja molekularna wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus*)". XVI Sympozjum Sekcji Wirusologicznej Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego oraz XXXVIII konferencja Robocza Wirusów Roślin Komitetu Ochrony Roślin PAN, 18-19.09.2012, Skierniewice

4. **Hasiów-Jaroszewska B**., Byczyk J., Borodynko N., Pospieszny H. 2013. „Ewolucja molekularna wirusa mozaiki pepino-groźnego patogena pomidora". 53. Sesja Naukowa IOR-PIB, 07-08.02.2013, Poznań

5. **Hasiów-Jaroszewska B**., Byczyk J., Borodynko N., Pospieszny H. 2013. „Analysis of the viral genetic determinants of symptom induction by *Pepino mosaic virus* in tomato". 4th International Symposium on Tomato Diseases and the 28th U.S. Annual Tomato Disease Workshop, 24-27.06.2013, Orlando, Floryda, USA.

Staże i szkolenia

Hiszpania, Walencja, Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (Institute for Plant Molecular and Cell Biology), 2012-2014, cztery wyjazdy studyjne (2 odbyte do tej pory) w ramach programu Mentoring z Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, mentor: prof. Santiago F. Elena

Polska, Poznań, „Budowa i utrzymywanie systemu zarządzania jakością w laboratorium zgodnego z PN-EN ISO/IEC 17025:2005", 09.01.2012, szkolenie

Polska, Warszawa, „Audit wewnętrzny w laboratorium" Polskie Centrum Akredytacji, 02-03.02.2012, szkolenie

Polska, Poznań, „Real-Time PCR w oznaczeniach jakościowych i ilościowych", Real Support, 20.12.12, szkolenie

USA, Stanford University, 15.10.2011-15.12.2011 staż naukowo-szkoleniowy w ramach programu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego „TOP500 Innovators: Science, Management, Commercalization"

Hiszpania, Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (Institute for Plant Molecular and Cell Biology), Walencja, 05.01.2011-02.04.2011- short term fellowship (3 miesiące) – stypendium z European Molecular Biology Organization ASTF 424-2010, opiekun naukowy: prof. Santiago F. Elena

Polska, Warszawa, Sekwencjonowanie i analiza metylacji DNA, Serwis dla Biologii Molekularnej 03-05.12.2008, warsztaty naukowe

Holandia, Wageningen University, szkolenie z zakresu analizy filogenetycznej, 25.03-05.04.2008, opiekun naukowy: prof. Jack Leunissen

Włochy, Triest, Bioinformatics: Computer Methods in Molecular Biology ICGEB, 25-29.06.2007, warsztaty naukowe

Polska, Warszawa, Podstawy filogenetyki molekularnej, Serwis dla Biologii Molekularnej, 14-16.06.2007, warsztaty naukowe

Syria, Damaszek, Theoretical and Practical Course: The use of molecular tools in studying host-pathogen interactions. Atomic Energy Commission, 02-12.04.2007, warsztaty naukowe

Egipt, Mubarak City, Genetic Engineering and Biotechnology Research Institute: ,,Theoretical and practical workshop on cloning and gene expression in procaryotic system" 02-12.09.2006, warsztaty naukowe

Brazylia, Petropolis, ,,11th International Bioinformatics Workshop on Virus Evolution and Molecular Epidemiology", 01-09.09.2005, warsztaty naukowe

Beata Hasiów-Jaroszewska