

## Autoreferat

### I. Dane osobowe

#### 1. Imię i Nazwisko.

**Zbigniew Gajewski**

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

mgr inż. ogrodnictwa, listopad 1993. Wydział Ogrodniczy, Akademia Rolnicza (obecnie Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytet Rolniczy) im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Praca magisterska: „Warunki występowania storczykowatych (Orchidaceae) w okolicach Trzebini”. Promotor: dr Zbigniew Pindel

dr nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwa, marzec 2003. Katedra Botaniki, Wydział Ogrodniczy, Akademia Rolnicza (obecnie Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytet Rolniczy) im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Rozprawa doktorska: „Wpływ wybranych fungicydów na rozprzestrzenianie się wirusa brązowej plamistości pomidora (TSWV) w uprawie szklarniowej pomidora (*Lycopersicon esculentum* Mill.)”. Promotor: dr hab. Tadeusz Kobyłko

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

Od 12.10.1995 stanowisko asystenta naukowo – dydaktycznego w Katedrze Botaniki Wydziału Ogrodniczego. Akademia Rolnicza w Krakowie

Od 1.07.2004 stanowisko adiunkta naukowo-dydaktycznego w Katedrze Botaniki i Fizjologii Roślin Wydziału Ogrodniczego. Akademia Rolnicza w Krakowie

Od 1.10.2013 stanowisko adiunkta naukowo-dydaktycznego w Instytucie Biologii Roślin i Biotechnologii w Zakładzie Botaniki i Fizjologii Roślin. Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Od 1.07.2016 stanowisko asystenta naukowo – dydaktycznego w Instytucie Biologii Roślin i Biotechnologii w Zakładzie Botaniki i Fizjologii Roślin. Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

## II. Wskazanie osiągnięcia naukowego

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. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

### A) Tytuł osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie wynikające 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. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.), wskazuję rozprawę przygotowaną w formie monografii pt:

**„Prognozowanie wystąpień faz fenologicznych pierwiosnki omączonej *Primula farinosa* L. (Primulaceae) – krytycznie zagrożonego gatunku – w odniesieniu do fenologii innych składników lokalnej flory i panujących warunków termicznych”**

### B) Autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy

Gajewski Zbigniew 2018. Prognozowanie wystąpień faz fenologicznych pierwiosnki omączonej *Primula farinosa* L. (Primulaceae) – krytycznie zagrożonego gatunku – w odniesieniu do fenologii innych składników lokalnej flory i panujących warunków termicznych, Wydawnictwo Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Kraków: 172+13 ss.

Recenzenci:

Dr hab. inż. Ewa Stańczyk-Mazanek, prof. PCz (Politechnika Częstochowska)

Dr hab. Józef Mitka, prof. UJ (Uniwersytet Jagielloński)

### C) Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

#### Wprowadzenie

Jednym z najcenniejszych elementów polskiej flory jest bylina, hemikryptofit pierwiosnka omączona (pierwiosnek omączony) *Primula farinosa* L. z rodziny pierwiosnkowatych (Primulaceae). Gatunek ten jest reliktem polodowcowym, który aktualnie występuje w Europie na ograniczonych i porozrywanych obszarach, zwłaszcza w terenach górskich ale także w niższych położeniach. Ma on specyficzne wymagania siedliskowe. Preferuje zasobne w wapień i wilgotne siedliska rosnąc na podmokłych, użytkowanych i wykaszanych zespołach trawiastych lub łąkach, jednak najczęściej na młakach. Fragmentacja istniejących siedlisk oraz zmiany w sposobie ich użytkowania powodują, że obecnie gatunek w skali Europy jest zagrożony, a w wielu miejscach już wyginął.

W Polsce w przeszłości *P. farinosa* była opisywana z 9 niżowych stanowisk jednak obecnie żadne z nich już nie istnieje. Jedynym górskim i istniejącym do dziś stanowiskiem było odkryte w 1959 roku w Paśmie Radziejowej (Beskid Sądecki, Karpaty Zachodnie). Znajduje się ono na wysokości 800 m n.p.m. w pobliżu wsi Jaworki w młacie reprezentującej związek *Caricion davallianae*. W pierwszych

latach po odkryciu szacowano wielkość tamtejszej populacji na kilka tysięcy osobników. Od tamtego czasu populacja ta bardzo silnie się skurczyła i w ostatnich latach na stanowisku obserwuje się około 300 kwitnących roślin. Jako rzadki i krytycznie zagrożony wyginięciem w naszym kraju, gatunek jest objęty ochroną i został wpisany m.in. do Polskiej Czerwonej Księgi Roślin i na Polską czerwoną listę paprotników i roślin kwiatowych z kategorią CR-krytycznie zagrożony. Chroniony jest także typ siedliska na którym występuje polska populacja *P. farinosa* czyli eutroficzna łąka górską.

Dla zachowania jednego z najbardziej cennych naszych gatunków, jak i górskiej łąki na której rośnie, wdrożony został wieloletni program. W 2011 roku zapoczątkowano ochronę czynną gatunku i stanowiska realizowaną przez Regionalną Dyрекcję Ochrony Środowiska (RDOŚ) w Krakowie i jej Wydział Spraw Terenowych w Starym Sączu.

Od samego początku brałem czynny udział w realizacji kolejnych projektów uruchamianych zgodnie z założeniami tego programu. Umożliwiło mi to przeprowadzenie wieloletnich badań i obserwacji terenowych. Jedno z zagadnień dotyczyło fenologii *P. farinosa* na tle innych gatunków występujących w regionie. Okazało się, że w trakcie działań konserwatorskich bardzo cenna może być możliwość oceny aktualnych faz fenologicznych *P. farinosa* i terminów ich występowania bez konieczności przeprowadzania uciążliwych wizytacji na odległym, górskim stanowisku. Zapotrzebowanie na takie informacje sygnalizowało wiele osób zajmujących się realizacją projektu, dlatego postanowiłem podjąć badania w tym temacie.

Uzyskane przeze mnie wyniki stanowią przedmiot rozprawy stanowiącej osiągnięcie naukowe.

### **Cel, osiągnięte wyniki i możliwości ich wykorzystania**

Aby działania konserwatorskie podejmowane w stosunku do zagrożonych roślin mogły być prowadzone skutecznie, należy poznać biologię gatunku oraz jego populacji. Ich znajomość ułatwia z kolei prowadzenie monitoringu na naturalnych stanowiskach, pozwala ustalić rodzaj podejmowanych zabiegów ochrony czynnej oraz umożliwia wyznaczenie kluczowych z punktu widzenia ochrony faz fenologicznych. Działania konserwatorskie muszą uwzględniać fazy rozwojowe rośliny na stanowisku i być do nich dostosowane. Jedyne polskie stanowisko *Primula farinosa* położone jest w terenie górskim. Zmienność i nieprzewidywalność warunków pogodowych, zwłaszcza termicznych, panujących w rejonie występowania gatunku powoduje, że terminy wystąpienia kolejnych faz fenologicznych *P. farinosa* mogą być różne. Dużym ułatwieniem dla programu ochrony i przy ustalaniu terminów podejmowanych zabiegów może być przynajmniej przybliżona znajomość aktualnej fazy fenologicznej *P. farinosa*, lub możliwość ich prognozowania bez konieczności wizyty na stanowisku. W związku z tym jako cel pracy przyjąłem poznanie jednego z najważniejszych elementów biologii populacji, tj. fenologii faz rozwojowych *P. farinosa* na stanowisku w zależności od panujących w regionie warunków termicznych. Dla skorelowania pojawów fenologicznych *P. farinosa* z innymi, często występującymi w Karpatach Zachodnich gatunkami, poszerzyłem zakres badań fenologicznych również o pozostałe składniki lokalnej flory. Podjęty przeze mnie cykl badań obejmował 5 sezonów wegetacyjnych, z czego przez 3 kolejne (w latach 2012-14) były one oparte na regularnie prowadzonych obserwacjach terenowych.

Wyniki moich badań potwierdziły wcześniejsze informacje, że *P. farinosa* należy do jednych z najwcześniej zakwitających na stanowisku roślin. Terminy jej

kwitnienia są uzależnione głównie od wiosennych temperatur powietrza na stanowisku. Okres kwitnienia populacji w Jaworkach trwał 7–7,5 tygodnia (w miesiącach kwiecień–czerwiec) zaś pełnia kwitnienia trwała około 2 tygodni (od końca kwietnia do końca II dekady maja). Ustaliłem, że wspólny dla 3 sezonów okres kwitnienia *P. farinosa* trwał od 27 kwietnia do 31 maja, okres pełni kwitnienia od 4 do 10 maja, a okres otwieranie owoców i rozsiewania nasion od 5 do 11 lipca.

Ocenę możliwości przewidywania terminów wystąpień faz fenologicznych *P. farinosa* przeprowadziłem dla dwóch metod, których skuteczność porównałem ze sobą. Wcześniejsze badania nad biologią gatunku pokazały, że z punktu widzenia ochrony czynnej szczególnie ważne są u tej rośliny kwitnienie i uwalnianie nasion, dlatego na nich skoncentrowałem największą uwagę.

Pierwszą metodę oparłem na grupie wytypowanych przeze mnie roślin wskaźnikowych, u których terminy kwitnienia pokrywały się z terminami istotnych faz fenologicznych u *P. farinosa*. Ustaliłem, że przy pomocy tej metody i w oparciu o występujące w rejonie Jaworek gatunki roślin możliwe jest prognozowanie, szczególnie faz związanych z kwitnieniem *P. farinosa*. Za dobre rośliny wskaźnikowe, których pełnie kwitnienia pokrywały się z kolejnymi etapami kwitnienia *P. farinosa* uznałem z grupy rosnących na stanowisku, takie gatunki jak: *Cardamine pratensis*, *Geum rivale*, *Valeriana simplicifolia*, *Cruciata glabra*, *Dactylorhiza majalis*, *Myosotis palustris* czy *Potentilla erecta*. Jeszcze większą i ważniejszą grupę stanowiły gatunki przechodzące w tym czasie pełnie kwitnienia i występujące w Jaworkach oraz niższych położeniach. Do tej grupy zaliczyłem między innymi: *Fragaria vesca*, *Dentaria bulbifera*, *Taraxacum officinale*, *Cardamine amara*, *Geum rivale*, *Chelidonium majus*, *Alliaria petiolata*, *Barbarea vulgaris*, *Geranium phaeum*, *Chaerophyllum hirsutum* czy *Ranunculus acris*. Jak wykazałem szczególnie przydatne do prognozowania okresu kwitnienia *P. farinosa* są powszechnie występujące w regionie gatunki drzew i krzewów z rodziny różowatych (Rosaceae). W czasie intensywnego kwitnienia *P. farinosa* kwitły drzewa i krzewy pestkowe z rodzajów *Prunus* i *Cerasus* (śliwa, tarnina, czereśnia), następnie zakwitały jabłonie (*Malus*) i jarząb pospolity (*Sorbus aucuparia*). Czas otwierania owoców i uwalniania nasion *P. farinosa* jest sygnalizowany przez kwitnące w rejonie *Ononis arvensis*, *Valeriana sambucifolia*, *Cichorium intybus*, *Melilotus alba*, *Centaureum erythraea*, *Achillea millefolium*, *Daucus carota*, *Geranium pratense*, *Agrimonia eupatoria* czy przez kwitnący na niewykoszonych łąkach *Gladiolus imbricatus*, jednak oparte na nich prognozy tej fazy nie są już tak dokładne. Dobrze jej wystąpienie sygnalizował natomiast występujący na siedliskach ruderalnych w okolicach Jaworek *Arctium tomentosum*, u którego w tym czasie obserwowano początkowe etapy kwitnienia.

Drugi ze sposobów prognozowania fenofaz *P. farinosa* oparty jest na metodzie stopniodni (ang. *degree-days*). Określiłem w tym celu uwarunkowanie faz rozwoju *P. farinosa* w zależności od sezonowej i lokalnej zmienności najważniejszego elementu klimatu, tj. sumy temperatur efektywnych (SAT) in situ. Ze względu na zastosowany wzór otrzymane przeze mnie wartości tego parametru są odpowiednikiem tzw. GDD - *Growing Degree Days*. W celu ich wyliczenia konieczne było wyznaczenie empirycznej wartości temperatury bazowej  $T_b$  charakterystycznej dla *P. farinosa* w Jaworkach. Na podstawie symulacji obliczeniowych dokonanych w oparciu o wartości temperatur zarejestrowanych na stanowisku ustaliłem jej wartość na 0,75°C. Przy obliczeniach można opcjonalnie stosować także, dającą niewiele mniej dokładne prognozy, zaokrągloną wartość 1,0°C. Jest ona dosyć niska w porównaniu z wartościami  $T_b$  dla innych naszych gatunków, jednak uznałem, że dzięki tej właściwości *P. farinosa* może tak szybko zakwitać na górskim stanowisku. Dla rozpoczęcie etapu kwitnienia wystarczy jeżeli

od początku roku skumulowana suma dodatnich, średnich dobowych temperatur powietrza na stanowisku z kolejnych dni wynosi zaledwie ok. 229°C. Skumulowana suma temperatur wyliczona w oparciu o najdokładniejszą wartość temperatury bazowej (0,75°C) powinna osiągnąć wtedy około 191°C. Dla pełni kwitnienia *P. farinosa* wartość tej sumy wynosi w takim przypadku ok. 408°C, a dla początku otwierania owoców i uwalniania nasion 1049°C.

W trakcie tego typu badań najczęściej nie dysponujemy dokładnymi danymi o aktualnych temperaturach na stanowisku. Informacje o warunkach termicznych w regionie można jednak pozyskać coraz częściej za pomocą serwisów internetowych. Ze względu na różnice w położeniu, prognozy oparte na danych z oddalonych od stanowiska stacji nie są zbyt dokładne. Ustaliłem to opierając prognozowanie o dostępne w sieci internetowej zapisy temperatur ze stacji IMGW w Krościenku nad Dunajcem. Precyzję prognozowania udało się jednak zwiększyć wprowadzając do obliczeń odpowiednią, wyliczoną dla tej stacji korektę, wynoszącą w tym przypadku -2,0°C. Oznacza to, że po uwzględnieniu korekty można prognozować wystąpienia fenofaz *P. farinosa* w Jaworkach w oparciu o dane pochodzące z tej stacji. Pokazuje to także możliwość zastosowania przy prognozowaniu danych temperaturowych z kolejnych, nowych stacji, po dokonaniu dla nich stosownych wyliczeń. Prognozowanie oparte na metodzie stopniodni okazało się skuteczne w prognozowaniu wszystkich faz fenologicznych *P. farinosa* także tych późniejszych, na przykład fazy uwalniania nasion, dla której dokładność prognozowania wynosiła 1 dobę.

Przedstawiona przeze mnie praca jest pierwszą, opisującą na tak szeroką skalę zagadnienia związane z fenologią polskiej populacji *P. farinosa* na tle pospolicie występujących w regionie gatunków roślin. Wnioskowanie przeprowadziłem w oparciu o wyniki regularnych, kilkusezonowych obserwacji w terenie, które ze względu na trudności w prowadzeniu są aktualnie rzadko podejmowane. Uzyskane dane tego typu posiadają wartość w związku z obserwowanymi i przewidywanymi zmianami klimatu w skali globalnej. Opracowane i przedstawione metody prognozowania faz fenologicznych mogą aktualnie znaleźć zastosowanie w podejmowaniu działań związanych z ochroną czynną rzadkiego i krytycznie zagrożonego gatunku polskiej flory jakim jest pierwiosnka omączona *P. farinosa* na stanowisku w Jaworkach. Mogą także zostać dostosowane do innych zagrożonych gatunków flory Polski i znaleźć zastosowanie w ich ochronie czynnej.

### III. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

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

W trakcie mojej kariery naukowej zajmowałem się zagadnieniami związanymi z możliwościami wzrostu, rozwoju oraz przetrwania wybranych roślin, które zostały poddane działaniu niekorzystnych czynników biotycznych i abiotycznych. Uwzględniłem w pracach zarówno typowe rośliny ogrodnicze jak i gatunki które ze względu na swoje cechy użytkowe mogą być wykorzystane w ogrodnictwie, ewentualnie z różnych powodów są przedmiotem zainteresowania ogrodników. Objąłem nimi zarówno rośliny uprawiane w szklarniach i na plantacjach, jak i niektóre gatunki będące naturalnym elementem naszej krajowej flory.

W przypadku roślin uprawnych skoncentrowałem się na zagadnieniach związanych z działaniem patogenów wirusowych. Wiązało się to z identyfikacją czynnika sprawczego oraz metod jego wykrywania. Z przyczyn praktycznych zająłem się istotnym z punktu widzenia epidemiologicznego zagadnieniami wpływu

zabiegów agrotechnicznych (opryskiwania fungycydami) na rozprzestrzenianie się patogenów wirusowych w uprawach pod osłonami. Najważniejsza jednak jest obecność u roślin naturalnych cech, zwłaszcza genetycznych warunkujących odporność na choroby wirusowe. Dlatego brałem udział w pracach związanych z selekcją takich roślin z przeznaczeniem dla hodowli odpornościowej.

Gatunki występujące w środowisku różnie mogą reagować na działanie niekorzystnych czynników. W wielu przypadkach są to zagrożenia wywołane czynnikami antropogenicznymi. Pod ich wpływem część gatunków wykazuje właściwości adaptacyjne. W tej grupie poszukiwałem tych, które ze względu na posiadane walory dekoracyjne mogą znaleźć zastosowanie w ogrodnictwie, a głównym obiektem badawczym były w tym przypadku rośliny z rodziny storczykowatych (Orchidaceae).

Niektóre gatunki mogą wykazywać również tolerancję na obecność w środowisku różnego typu zanieczyszczeń. W trakcie badań skupiłem się na taksonach mogących znaleźć zastosowania w fitoremediacji środowisk lądowych i wodnych z nadmiaru jonów metali ciężkich.

Pod wpływem działania szeregu niekorzystnych czynników biotycznych i abiotycznych część krajowych gatunków roślin jest zagrożona wyginięciem, dlatego należy podejmować odpowiednie zabiegi konserwatorskie. W trakcie prac związanych z niektórymi, zagrożonymi w skali Polski lub Europy taksonami prowadziłem badania nad wybranymi aspektami przydatnymi w ich ochronie. Obejmowały one zagadnienia związane z biologią tych gatunków i ich populacji. Konieczna w tych przypadkach była również ocena warunków siedliskowych, w trakcie której dokonywałem identyfikacji czynników, które najbardziej niekorzystnie wpływały na stan monitorowanych roślin. Ponieważ w stosunku do krytycznie zagrożonych gatunków podejmuje się szereg zabiegów ochrony czynnej, często wykorzystując w nich techniki ogrodnicze, również prowadziłem badania w tym zakresie.

### **Ekologia i ochrona zagrożonych gatunków roślin**

Badania związane z ekologią i ochroną zagrożonych gatunków roślin stanowią istotną część moich prac. Są one efektem własnych pasji, zainteresowania botaniką i chęcią zachowania w naturze unikatowych, zagrożonych wyginięciem taksonów. Prowadzę je od samego początku kariery naukowej, jednak najważniejsze działania to te z ostatnich lat, dotyczące ochrony krytycznie zagrożonego w Polsce gatunku jakim jest pierwiosnka omączona *Primula farinosa*. Jak już wspominałem od kilku lat w celu ochrony tego gatunku jak i górskiej młaki na której rośnie jest realizowany program RDOŚ w Krakowie. Od samego początku brałem czynny udział w realizacji programu jako wykonawca w kolejnych etapach projektów, a w 2015 roku kierowałem i koordynowałem realizacją projektu na poziomie Uczelni [projekt 62/2015/RDOŚ/ST-II]. Część zagadnień związanych z biologią, ekologią a szczególnie z fenologią gatunku została przedstawiona we wcześniej opisaney pracy stanowiącej osiągnięcie naukowe. Pozostałe wyniki wieloletnich badań i obserwacji terenowych zostały w większości przedstawione w kilku raportach, ekspertyzach, doniesieniach z konferencji zagranicznych i krajowych i publikacjach [A1, A6].

Z chwilą rozpoczęcia programu ochrony w 2011 zostałem włączony do zespołu który miał wyjaśnić przyczyny gwałtownego kurczenia się populacji na stanowisku w Beskidzie Sądeckim. Badania dotyczyły czynników mogących wpływać na efektywność rozmnażania/reprodukcji, dlatego dokonaliśmy oceny zagadnień związanych z biologią kwitnienia gatunku oraz warunków siedliskowych. Obejmowały one zarówno obserwacje terenowe jak i analizy laboratoryjne

[publikacja A1]. Prace rozpocząłem od oceny liczebności gatunku na stanowisku i porównania wyników z wcześniejszymi danymi pochodzącymi z różnych źródeł. Potwierdziłem bardzo niską liczebność populacji (158 kwitnących rozet) i trwającą od kilku lat jej tendencję spadkową. Dodatkowo niewłaściwa była również struktura wiekowa populacji (niski udział osobników juwenilnych) wskazująca na jej regresję. Obecne za to były zarówno osobniki o kwiatach krótko- jak i długoszyjkowych. Wyniki przeprowadzonych badań laboratoryjnych nie dały podstaw do wnioskowania, że przyczyną ograniczającą wielkość populacji są zaburzenia w procesach generatywnych. Ziarna pyłku były żywotne i wykształcały łagiewki. Żywotność zarodków tuż po dojrzewaniu nasion wynosiła 95%. Równocześnie podjęliśmy działania w celu określenia zagrożeń na stanowisku. Zwróciliśmy uwagę na zmiany w składzie gatunkowym fitocenozy z *P. farinosa* i na znaczne zwiększenie udziału ekspansywnych gatunków klonalnych, szczególnie *Scirpus sylvaticus*.

Kluczowe znaczenie przy podejmowaniu działań konserwatorskich dla zagrożonych gatunków roślin ma nie tylko określenie grupy organizmów, które zostaną jej poddane, ale także rodzaj podjętych zabiegów. Podmiotem ochrony są najczęściej gatunki organizmów zagrożonych, jednak unikatowe mogą być również genetyczna struktura populacji czyli wyraźnie zaznaczona zmienność genetyczna występująca pomiędzy poszczególnymi subpopulacjami. Dotyczy to na przykład stanowisk izolowanych na skraju zasięgu gatunku. W ich przypadku niewłaściwie prowadzone działania konserwatorskie mogą doprowadzić do zaburzenia ukształtowanego najczęściej przez tysiące lat układu zmienności. Stanowisko *P. farinosa* w Jaworkach ze względu na położenie topograficzne i odległość od najbliższych znanych stanowisk może być izolowane i jako takie może posiadać unikatową strukturę genetyczną. To bardzo ważne zagadnienie z punktu ochrony czynnej gdyż jedną z jej zalecanych metod w przypadku ginących populacji jest ich zasilanie osobnikami rozmnażanymi *ex situ*. Uznałem, że jeszcze przed podjęciem jakichkolwiek działań na stanowisku *P. farinosa* należy dokonać porównania pod względem genetycznym polskiej populacji z najbliższymi leżącymi na Słowacji [publikacja A6]. Pozyskanie próbek materiału do badań było możliwe dzięki nawiązaniu współpracy z PIENAP (słowacka część Pienińskiego Parku Narodowego) i jego dyrektorem dr inż. Vladimirem Klčem. Do współpracy badawczej zaprosiłem dr. Piotra Boronia z Instytutu Ochrony Ekosystemów Leśnych UR w Krakowie. Przy zastosowaniu markerów molekularnych SSR przeprowadziliśmy analizę genetyczną 4 populacji, porównując polską z 3 słowackimi. Zgodnie z wynikami modelowania STRUCTURE (Bayesian clustering), wykazaliśmy wyraźną strukturę populacji w badanej grupie. Pomiedzy populacjami z Polski i Słowacji stwierdziliśmy ograniczony przepływ genów. Wszystkie trzy słowackie populacje były zdominowane przez jedną grupę genetyczną, podczas gdy populacja polska składała się głównie z osobników zdominowanych przez drugą grupę genetyczną. Stanowisko w Beskidzie Sądeckim jest zatem genetycznie odrębne i jako pozostałość szerszego zasięgu zostało uznane za reliktowe. Najważniejszym, praktycznym zastosowaniem podjętych przeze mnie badań jest wniosek, że proponowana aktualnie metoda ochrony czynnej polskiego stanowiska, polegająca na zasilaniu populacji osobnikami rozmnażanymi *ex situ* z nasion pozyskanych na tym stanowisku, wydaje się właściwa.

Rozpoczęte działania z zakresu ochrony czynnej *P. farinosa* w których uczestniczę są wciąż kontynuowane. Wiele zabiegów zostało już przeprowadzonych, także na stanowisku. Zagrożona populacja była przez kolejne lata zasilana roślinami rozmnożonymi *ex situ* z nasion pobranych w Jaworkach.

Przyjęte i przedstawione na podstawie badań założenia pozwolą na zachowanie i ochronę unikatowej kompozycji genetycznej polskiej populacji. Jako sukces prowadzonych działań konserwatorskich należy uznać podniesienie oceny stanu krajowej populacji, która właśnie dzięki wprowadzonym zabiegom w ostatnim raporcie GIOŚ otrzymała z prowadzonego monitoringu przyrodniczego kategorię FV – właściwy. Za ważne osiągnięcie własne uważam również utworzenie w wytypowanej przeze mnie lokalizacji (w Beskidzie Sądeckim) stanowiska zastępczego dla *P. farinosa*. Od kilku lat są tam wysadzone rośliny rozmnażane z nasion pozyskanych na naturalnym stanowisku. Brak jest aktualnie dowodów na reprodukcję generatywną u tych roślin, jednak ich liczba zwiększa się dzięki stwierdzonemu u nich wzrostowi klonalnemu.

Od początku działalności naukowej szczególnym przedmiotem zainteresowań badawczych i obserwacji terenowych była rodzina storczykowatych (Orchidaceae). Interesowało mnie zjawisko apofityzmu u storczyków oraz występowanie tych roślin na terenach poddanych antropopresji. Przez wiele lat powszechnie uważano, że gatunki z tej rodziny ze względu na specyficzne wymagania siedliskowe są na tyle wrażliwe, że w wielu miejscach poddanych silnej antropopresji nie mają szans na przeżycie. Tymczasem mimo zachodzących przemian w wielu regionach Polski obserwowano, że populacje pewnych gatunków nie tylko przetrwały ale są również w dobrej kondycji. W przypadku niektórych gatunków zaobserwowano nawet zjawisko apofityzmu, czyli wkraczania ich na stanowiska antropogeniczne i poddane antropopresji. Dodatkowo storczykowate ze względu na dekoracyjność kwiatów a w niektórych przypadkach także liści są bardzo atrakcyjne jako potencjalne rośliny ogrodowe. Ich specyficzna biologia i wymagania siedliskowe powodują że są one uważane za trudne w uprawie i dlatego dosyć rzadko spotykane w ogrodach. Występowanie opisywanego przeze mnie zjawiska świadczy o dużej tolerancji i możliwościach przystosowawczych pewnych gatunków do trudnych warunków siedliskowych [publikacje **B10**, **B20**]. Moje obserwacje terenowe pozwoliły potwierdzić z obszaru Małopolski i wschodniej części Śląska występowanie tego zjawiska u przynajmniej 13 gatunków (pochodzących z 9 rodzajów). Najczęściej zasiedlonymi przez storczyki okazały się pobocza dróg i linii kolejowych. Często obserwowałem storczyki rosnące w pobliżu zabudowań gospodarskich i w ogrodach a nawet w pobliżu instalacji przemysłowych, hałd odpadów i wysypisk śmieci. W większości występowały one na tych terenach licznie. Prawie połowa tych gatunków aktualnie posiada w Polsce kategorię zagrożenia NT – bliski zagrożenia (dawniej V – narażony, a *Cephalanthera rubra* i *Malaxis monophyllos* kategorię VU – narażony. Do najbardziej dekoracyjnych gatunków które nie były opisywane jako potencjalne byliny ogrodowe zaliczyłem *Epipactis palustris*, *Gymnadenia conopsea* i *Orchis mascula*.

Szczegółowymi badaniami objąłem tereny przemysłowe położone w pobliżu zakładów rafineryjnych ropy naftowej oraz głębinowej kopalni rud cynku i ołowiu w Trzebini [publikacja **B3**]. Mimo znacznego przekształcenia i dewastacji terenu, silnej antropopresji i występujących na nim zagrożeń zachowały się tam mikrosiedliska w których korzystne warunki do rozwoju znalazło 7 gatunków storczyków. Poza gatunkami pospolitymi takimi jak *Dactylorhiza majalis* czy *Epipactis helleborine* stwierdziłem w kilku miejscach dosyć liczne występowanie takich gatunków jak *Gymnadenia conopsea* czy *Epipactis palustris*. Storczyki rosły na dwóch skrajnie różniących się typach siedlisk albo w miejscach odkrytych i silnie podmokłych, albo suchych i najczęściej bardzo zacienionych. Analiza panujących warunków siedliskowych oraz składu gatunkowego pozwoliła wysnuć hipotezę, że

większość podmokłych stanowisk to pozostałości po znajdujących się w stadium degeneracji torfowiskach niskich. W suchych lasach powstałych wyniku rekultywacji stwierdziłem z kolei występowanie *Malaxis monophyllos*, który w tamtych czasach był uważany za bardzo rzadki gatunek i dopiero pojawiały się informacje o coraz częstszym jego wkraczaniu na tereny antropogeniczne.

Wyniki moich badań dotyczących apofityzmu i występowania storczyków na terenach poddanych antropopresji w większości były poszerzeniem i potwierdzeniem wiadomości na ten temat, pochodzących z innych regionów Polski, w przypadku której zjawisko to opisano dla 22 gatunków. Daje to nadzieję zarówno na zachowanie tych storczyków w naturze jak i możliwość zastosowania ich jako bylin ogrodowych.

Znaczącą częścią moich badań dotyczących storczykowatych była prowadzona w ramach współpracy z Ojcowskim Parkiem Narodowym inwentaryzacja aktualnej flory storczykowej na obszarze parku oraz jego otuliny. Miała ona na celu nie tylko ocenę stanu aktualnego w odniesieniu do danych historycznych i danych z lat 70. ubiegłego wieku (inwentaryzacja florystyczna przeprowadzona przez prof. Michalika) ale również ocenę kondycji niektórych istotnych gatunków ujętych w załączniku II Dyrektywy Siedliskowej Natura 2000 (w tym przypadku obuwika pospolitego *Cypripedium calceolus*) [publikacje **B11**, **B15**, **B18**, **B19**]. Park ten ze względu na niewielką powierzchnię i wzmożony ruch turystyczny jest narażony na działanie silnych czynników antropogenicznych. Pierwszy etap prowadzony w latach 2005-2011 służył oszacowaniu liczby aktualnie występujących gatunków i ich miejsc występowania. W jego trakcie udało mi się wykazać, że na obszarze parku występuje 10 gatunków storczykowatych, a więc znacznie mniej niż opisywały to wcześniejsze źródła. Ważnym osiągnięciem z tego etapu prac było odkrycie przeze mnie i opisanie na terenie parku nowych stanowisk 2 gatunków [publikacje **B11**, **B15**]. Pierwszym z nich był wyblin jednolistny *Malaxis monophyllos*, uważany za gatunek który na terenie parku już wyginął. Pomimo, że stanowisko odkryte i opisane przeze mnie w 2009 roku występowało na terenie antropogenicznym i poddanym antropopresji (pobocze drogi) populacja gatunku okazała się być bardzo liczna i w dobrej kondycji. Poza okazami płonnymi potwierdziłem na stanowisku obecność 74 kwitnących pędów tego gatunku. Drugie nowe stanowisko dotyczyło *Cypripedium calceolus*. Zostało ono odkryte w 2005 roku w środkowej części Doliny Paduch porośniętej lasem grądowym *Tilio – Carpinetum* i borem mieszanym *Pino – Quercetum*. Od chwili znalezienia w kolejnych latach udało mi się potwierdzić w tym rejonie na rozproszonych fragmentach około 8 płonnych i 7 kwitnących pędów (z których część zawiązywała owoce). Już wstępna ocena wykazała duże zagrożenie dla tej populacji spowodowane głównie znacznym zacienieniem tych partii lasu. W 2013 roku przeprowadziłem szczególnie ważne dla parku prace inwentaryzacyjne (poprzedzone kilkuletnimi wcześniejszymi obserwacjami terenowymi) dotyczące tego gatunku. Obejmowały one lokalizację aktualnie znanych stanowisk, liczebność, warunki występowania i kondycję z uwzględnieniem zagrożeń oraz koniecznych do podjęcia zabiegów ochrony czynnej [publikacja **B18**]. Scharakteryzowałem w nich dokładnie 3 populacje i stanowiska na których w 2013 roku obserwowałem kwitnące okazy *C. calceolus*. W tym sezonie wegetacyjnym na terenie parku odnalazłem w sumie 921 kwitnących pędów, jednak porównywane populacje pod wieloma względami różniły się między sobą. W najliczniejszej, położonej w Dolinie Zachwytu potwierdziłem obecność 904 pędów generatywnych (rosnących pojedynczo i w kępach) z których kwiaty zawiązały owoce na poziomie prawie 30%. Mimo zagrożenia antropopresją populacja w tym miejscu pod

względem struktury okazała się być właściwa i stosunkowo mało zagrożona. Zestawiając informacje z wcześniejszych lat ustaliłem, że kondycja kolejnej populacji (w Dolinie Saspowskiej) na skutek naturalnego prześwietlenia ulega stopniowej poprawie, zagrożona natomiast jest populacja w Dolinie Paduch. Zaobserwowałem w tym miejscu zmniejszenie liczby pędów kwitnących i całkowity brak zawiązywania owoców, co było skutkiem silnego zacienienia tego miejsca, dlatego postulowałem konieczność podjęcia odpowiednich zabiegów. Według otrzymanych informacji część zasugerowanych przeze mnie zaleceń została wprowadzona, dokonano na przykład zabiegów prześwietlających na zagrożonym stanowisku.

Wyniki własnych, wieloletnich obserwacji storczykowatych zestawiałem przy współpracy z dr Anną Sołtys-Lelek (Ojcowski PN) z aktualnie dostępnymi w parku danymi pochodzącymi z innych źródeł (również historycznych) [publikacja **B19**]. Z zestawień tych wynika, że z 22 wcześniej notowanych gatunków storczyków aktualnie na terenie parku występuje przynajmniej 13, a najliczniej występującym na całym obszarze okazał się być *Epipactis helleborine*. Najcenniejszymi obszarami pod względem różnorodności gatunkowej storczyków okazały się być fragmenty zboczy w środkowej części Doliny Paduch i środkowa część Doliny Zachwytu, gdzie występuje po 6 gatunków. W składzie gatunkowym tej grupy roślin wyraźnie zaznacza się w ostatnich latach zwiększenie udziału gatunków związanych ze zbiorowiskami leśnymi z równoczesnym wymieraniem gatunków związanych z siedliskami nieleśnymi. Wiele gatunków prawdopodobnie już zupełnie wyginęło, jednak niektóre np. *Epipogium aphyllum*, *Malaxis monophyllos* czy *Orchis mascula*, uważane wcześniej za wymarłe na terenie parku udało się ponownie odnaleźć.

Prowadziłem również badania nad liczebnością i dynamiką pojawiania się pędów nadziemnych u gnieźnika leśnego *Neottia nidus-avis*, Obiektem wciąż kontynuowanych badań jest duża (licząca nawet kilkaset pędów nadziemnych) przydrożna populacja we Frywałdzie k. Krzeszowic (Małopolska). Ze względu na złożoność problemu i konieczność wieloletnich obserwacji przedstawiłem dotychczas tylko wstępne wyniki (abstrakt **D4**). Problemem biologii tego gatunku udało mi się jednak zainteresować jednego ze studentów, który włączył się w te badania i prowadzi je w ramach swoich studiów doktoranckich, a część wyników z przeprowadzonych wspólnie prac została przedstawiona na sesji Kół Naukowych i została nagrodzona.

Chronionym i rzadkim gatunkiem, który również był obiektem moich zainteresowań była cieszyńnianka wiosenna *Hacquetia epipactis*. Ma ona w Polsce bardzo ograniczony zasięg. Prace nad tym gatunkiem rozpocząłem od opisanie nieznanego dotychczas stanowiska w Woli Radziszowskiej (Pogórze Wielickie, Małopolska) [publikacja **B6**]. Informacje o jego przybliżonej, prawdopodobnej lokalizacji pochodziły z przekazów ustnych od starszych pracowników jednostki. Wraz z zespołem współpracowników zainteresowanych biologią i ochroną gatunku określiliśmy dokładną lokalizację nowego stanowiska (odbiornik GPS). Obfite występowanie gatunku stwierdziliśmy na niewielkim fragmencie zalesionego, nachylnego w kierunku północno-wschodnim stoku wzniesienia, leżącego na południe od wsi (na wysokości 317 m n.p.m.). Dokonaliśmy także charakterystyki fitosocjologicznej zbiorowiska z *H. epipactis* i wstępnie scharakteryzowaliśmy występującą tam populację (abstrakt **D8**). W obrębie płatu badawczego (o powierzchni 120 m<sup>2</sup>) założonego w miejscu największego zagęszczenia osobników potwierdziliśmy 86 pędów nadziemnych (ramet) zgrupowanych w nierównomiernie rozmieszczone kępy. Udział ramet kwitnących w populacji

wynosił 65,1%. Potwierdziliśmy też obecność siewek szczególnie licznych w pobliżu osobników rosnących przy ścieżkach. Następnie porównaliśmy ze sobą dwie wyspowe populacje gatunku [publikacja B13], nowo opisaną, z położoną najbliżej, znaną i objętą ochroną obszarową (Rezerwat Cieszynianka) w Mogilanach k. Krakowa. W tym celu wykonaliśmy zdjęcia fitosocjologiczne i analizowaliśmy ich strukturę przestrzenną w obrębie stałych poletek badawczych. W przypadku obydwu lokalizacji cieszynianka występowała w płatach grądu subkontynentalnego *Tilio-Carpinetum*, a struktura przestrzenna reprezentowała skupiskowy typ rozmieszczenia typowy dla gatunków klonalnych. Na stanowisku w Woli Radziszowskiej stwierdziliśmy mniejszą niż w Mogilanach liczbę ramet (o 60%), w tym ramet kwitnących (o 43%), mniejsza była także liczba kwiatostanów i liści. Na nowym stanowisku większa była jednak liczba pędów kwiatostanowych na rametę i wyższy (prawie dwukrotnie) udział ramet kwitnących. Populacja w Mogilanach, chociaż znacznie liczniejsza okazała się być bardziej narażona na czynniki antropogeniczne.

Cieszynianka wiosenna *H. epipactis* jest w Polsce gatunkiem zagrożonym, a stan niewielkich wyspowych populacji jest często zły. Przyczynia się do tego między innymi mały potencjał reprodukcyjny (niska zdolność kiełkowania i przeżywalność siewek) oraz pozyskiwanie ze stanowisk naturalnych roślin do ogrodów. W celach ochrony gatunku podjęte zostały próby jego alternatywnego rozmnażania *ex situ* [publikacja B14]. Bardzo efektywne okazało się w tym przypadku inicjowanie kultur z pąków wierzchołkowych, natomiast wysiewanie nasion na pożywki ze względu na niski współczynnik kiełkowania i przeżywalności siewek oraz występujące zakażenia okazało się nieskuteczne.

#### Możliwości zastosowania roślin w fitoremediacji

Prace z zakresu fitoremediacji rozpocząłem dzięki możliwości współpracy jednostki w której pracuję z Zakładami Górniczo-Hutniczymi "Bolesław" w Bukownie koło Olkusza. Były one częścią obszerniejszych badań dotyczących możliwości rekultywacji zwałowiska odpadów powstających w wyniku flotacyjnego wzbogacania rud cynkowo-ołowiowych [publikacje B7, B8, B16]. Materiał ten powoduje silne skażenie środowiska przyrodniczego głównie metalami ciężkimi, dodatkowo jest bardzo podatny na procesy erozyjne, a jego biologiczne zagospodarowanie jest bardzo trudne. Ze względu na właściwości fizykochemiczne materiału na jego zwałowiskach naturalna sukcesja roślinności jest silnie ograniczona a wprowadzane rośliny często zamierają. Na terenach przyległych do kopalń i zakładów przetwórstwa rud cynkowo-ołowiowych w wielu krajach prowadzone są badania nad stabilizacją materiału poflotacyjnego i doбором w tym celu odpowiednich gatunków roślin. Wraz z zespołem do którego zostałem włączony sprawdziliśmy przydatność brzozy brodawkowej (*Betula pendula*), gatunku posiadającego szerokie spektrum ekologiczne w stabilizacji odpadów zanieczyszczonymi metalami ciężkimi, oraz jej możliwości adaptacyjne i reakcje na tak niekorzystne warunki wzrostu [publikacje B7, B8].

Przeżywalność wysadzonych roślin po 4 latach uprawy na poletkach eksperymentalnych była uzależniona od zasobności podłoża i zawartości metali ciężkich. Na podłożu bardzo ubogim, przesuszonym i silnie skażonym (Zn 10 824 mg×kg<sup>-1</sup>, Pb 6090 mg×kg<sup>-1</sup> i Cd 85,6 mg×kg<sup>-1</sup>) przetrwało 67% okazów brzozy. Analizy wykonane przy użyciu atomowego spektrometru emisyjnego (ICP-AES) wykazały u brzozy umiarkowane zdolności do akumulowania pobranych z podłoża metali w tkankach, głównie w korzeniach lub w liściach (Zn). Rośliny uprawiane na materiale poflotacyjnym wykazywały zmiany morfologiczne i anatomiczne. Wykształcały one bardzo rozbudowane systemy korzeniowe, a już od 3 roku

obserwacji widoczne było znaczne zmniejszenie powierzchni blaszek liściowych. Z kolei na preparatach mikroskopowych obserwowano zaburzenia w różnicowaniu miększu i wiązek przewodzących, a w górnej skórcie liści obecność ciemnych złogów. Efektem tych badań było potwierdzenie dużych możliwości adaptacyjnych brzozy i jej przydatności w stabilizacji gruntów zanieczyszczonych metalami ciężkimi. Dodatkowo w trakcie badań potwierdziliśmy, że gatunek ten może znaleźć zastosowanie jako bioindykator skażeń.

Od kilku lat na zwałowisku odpadów poflotacyjnych koło Olkusza prowadzę także badania nad możliwością stabilizacji skażonego podłoża przy pomocy nowych gatunków roślin zielnych. Koncentruję się na takich aspektach jak możliwość skielkowania nasion, przetrwania rośliny i ponownego wydania nasion a więc zdolności do zamknięcia cyklu życiowego i samoobsiewania w bardzo niekorzystnych warunkach. Uzyskane dotychczas przeze mnie wyniki są w stosunku do kilku gatunków bardzo obiecujące (abstrakt C7).

Szczególnie ważne badania z tego zakresu prowadziłem po włączeniu mnie do zespołu kierowanego przez dr Joannę Augustynowicz do prac nad oceną zdolności rośliny wodnej rzęśli długoszyjkowej *Callitriche cophocarpa* do fitoremediacji wód skażonych związkami chromu, Cr(VI) i Cr(III). Chrom jest wykorzystywany w wielu krajach głównie w przemyśle metalowym, ale także często do garbowania skór, co prowadzi do silnych skażeń środowiska. W Polsce ze względu na obecność licznych garbarni problem ten dotyczy szczególnie Małopolski, zwłaszcza Podhala. Z dwóch stabilnych form chromu występujących w przyrodzie bardziej niebezpieczny jest Cr(VI). Jest on toksyczny dla roślin, a na ludzi i zwierzęta działa kancerogennie. Jednak obydwa, zarówno związki Cr(VI) jak i Cr(III) są klasyfikowane przez Amerykańską Agencję Środowiskową (US EPA) jako związki o priorytetowej toksyczności. W pracach w których brałem udział [publikacje A2, A3] ocenialiśmy potencjał fitoremediacyjny pędów *C. cophocarpa* i związane z nim mechanizmy redukcji wiązania i transportu chromu oraz dystrybucja jonów Cr w łodygach i liściach. Badania miały charakter interdyscyplinarny a analizy były prowadzone wieloma metodami. Jedną z ważniejszych było mapowanie rozmieszczenia Cr w pędach *C. cophocarpa* z zastosowaniem rentgenowskiej spektroskopii fluorescencyjnej (*X-ray fluorescence spectroscopy*; XRF). Dzięki zdobytym umiejętnościom obsługi profesjonalnego programu do analizy obrazów Image Pro Plus 4.0 przeprowadziłem stosowne pomiary i interpretację sporządzonych na AGH w Krakowie map XRF. Pochodzące z nich dane dotyczące formy chromu, jego ilości i rozmieszczenia skorelowałem również z obrazami morfologii pędów (rozmieszczenie włosków, trychomów na powierzchni liści) otrzymanymi przy użyciu mikroskopii świetlnej z kontrastem interferencyjno-różnicowym Nomarskiego. Uzyskane przeze mnie dane potwierdziły wyniki otrzymane innymi metodami. Badania pokazały, że pobieranie, transport i akumulacja chromu w pędach *C. cophocarpa* zależą od jego formy. W roślinach poddanych działaniu Cr(VI) pierwiastek występował głównie w wiązkach przewodzących oraz w mniejszych ilościach w pojedynczych włoskach położonych na powierzchni łodyg. Z kolei Cr(III) znajdowany był wyłącznie we włoskach liści i łodyg. Dodatkowo Cr(VI) może być redukowany we włoskach do Cr(III) co oznacza, że włoski mogą pełnić funkcję zabezpieczającą przed wnikaniem jonów Cr ze środowiska zewnętrznego w głąb tkanek. Opracowane przeze mnie sposoby wizualizacji rozmieszczenia chromu w tkankach (będące kompilacją różnych zastosowanych technik) zostały nie tylko przedstawione w publikacji [publikacja A3, Fig. 2] ale też na międzynarodowej konferencji biotechnologicznej w Cherklionie na Krecie (Grecja) gdzie zyskały zainteresowanie.

W ostatniej pracy z tego zakresu [A5] mogłem wykorzystać umiejętności interpretacji elektronogramów transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM) w badaniach nad czynnikami warunkującymi zdolność przelotu pospolitego *Anthyllis vulneraria* do wzrostu w warunkach podwyższonego poziomu Pb w podłożu. Jak wykazały badania, rośliny testowe zareagowały na skażenie wysokim stopniem koncentracji Pb zwłaszcza w korzeniach. Zaobserwowano u nich również zmiany w budowie morfologicznej i zmiany w wydajności procesu fotosyntezy. Podniesienie wydajności aparatu fotosyntetyzującego zrekompensowało zaobserwowane przeze mnie w tych roślinach silne zmiany w strukturze submikroskopowej komórek (zwłaszcza w tylakoidach gran chloroplastów).

### Choroby wirusowe roślin uprawnych

Od początku zatrudnienia w Katedrze Botaniki zostałem włączony w badania wirusologiczne, które prowadził zespół kierowany przez prof. Kazimierza Miczyńskiego, a w późniejszym okresie przez prof. Tadeusza Kobyłko. Dużym atutem przydatnym w tych pracach była posiadana przeze mnie znajomość licznych technik diagnostycznych (prowadzenia testów biologicznych, serologicznych i stosowanie niektórych technik molekularnych). Zdołem także umiejętność sporządzania preparatów dla transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM) i obsługi transmisyjnego mikroskopu elektronowego [publikacje B9, B12, B17], co wraz z umiejętnością interpretacji elektronogramów wykorzystywałem w badaniach. Szczególnym obiektem moich zainteresowań były wirusy porażające rośliny pomidora, głównie w uprawie pod osłonami. Dotyczyły one odporności pomidora oraz wybranych zagadnień związanych z mechanizmem zakażenia.

Duża część badań dotyczących odporności pomidora w których brałem udział była częścią realizowanego w jednostce grantu KBN „Badanie wirusów porażających rośliny ogrodnicze oraz czynników ograniczających infekcje wirusowe”. Dotyczyły one w tym przypadku reakcji dzikich gatunków pomidora na występujące w okolicach Krakowa izolaty takich wirusów jak: CMV (wirus mozaiki ogórka), ToMV (wirus mozaiki pomidora) i TSWV (wirus brązowej plamistości pomidora). Badania te miały na celu selekcje form posiadających skumulowane geny odporności na te wirusy, przydatnych w dalszych pracach hodowlanych [publikacja B1]. W ich trakcie przebadłem 28 form dzikich pomidorów należących do 6 gatunków pod kątem ich odporności na TSWV i częściowo na ToMV. Z przebadanej grupy udało się wykazać całkowitą odporność na lokalne izolaty ToMV wyłącznie dla 4 (wszystkich uwzględnionych w badaniach) form *Lycopersicon hirsutum* (wraz z *L. hirsutum* v. *glabratum*). Na lokalne izolaty TSWV całkowitą odporność wykazała tylko jedna forma *L. peruvianum*, a częściową (ok. 97%) dwie inne. Dwie formy (z gatunków *L. peruvianum* i *L. hirsutum*) charakteryzowały się całkowitą tolerancją (infekcja bezobjawowa) na TSWV. Żadna z przebadanych form nie była całkowicie odporna na 2 lub 3 wirusy równocześnie. W wyniku tych badań wytypowano ostatecznie 3 formy: *L. glandulosum* (PI-731165), *L. hirsutum* (PI-127826) i *L. peruvianum* PI-326173) które wykazywały najwyższy stopień odporności na infekcje mieszane jako rekomendowane do dalszych prac hodowlanych.

Pod koniec lat 90. XX w. narastającym problemem było porażanie roślin szklarniowych przez wirusy z rodzaju *Tospovirus* w tym przez wirusa TSWV. Prowadzono wtedy liczne badania nad genetyczną odpornością roślin uprawnych na te wirusy. Szczególnym zainteresowaniem objęty był pochodzący z *L. peruvianum* gen Sw-5 warunkujący szeroką odporność na izolaty TSWV

pochodzące z wielu obszarów geograficznych. Badania w których uczestniczyłem [publikacja **B5**] polegały na sprawdzeniu odporności wybranych form pomidora (*Lycopersicon esculentum* Mill.) w zależności od obecności w nich genu *Sw-5* na infekcję lokalnymi izolatami TSWV. Poza badaniami roślin odpornych i podatnych na tego wirusa (które były traktowane jako wzorzec) testowałem krzewy pomidora różnych form uzyskanych w trakcie hodowli odpornościowej w PHRO Krzeszowice. Były one przez kilka tygodni uprawiane w warunkach umożliwiających naturalne ich porażenie wirusem TSWV (w obecności roślin będących rezerwuarem scharakteryzowanego przeze mnie izolatu wirusa i w warunkach silnej presji wciornastka zachodniego *Frankliniella occidentalis*, jedyne naturalnego wektora tego wirusa). Udało się wykazać wysoką zgodność między obecnością w testowanych roślinach genu *Sw-5* a występowaniem objawów choroby i obecnością białka wirusowego. Produkty reakcji PCR z zastosowaniem markera molekularnego (SCAR 421) potwierdziły u różnych przebadanych form (mieszance z liniami posiadającymi odporność i w liniach pochodnych) obecność genu odporności w formie homo lub heterozygotycznej. Prawie u wszystkich posiadających go roślin nie było objawów choroby, a w teście DAS ELISA nie stwierdziłem w nich obecności białka wirusowego. Objawy porażenia wirusem wystąpiły u mniej niż 2% roślin niosących allel *Sw-5* (mieszaniec Br × Stevens), co najprawdopodobniej było wynikiem ograniczonej penetracji genu oporności i niekompletnej dominacji genu *Sw-5* w roślinach mieszańcowych. Badania te pokazały przydatność markera SCAR 421 w pracach hodowlanych nad odmianami pomidora odpornego na TSWV w Polsce.

Część prowadzonych przeze mnie badań dotyczyła potencjalnego wpływu opryskiwania fungicydami roślin pod osłonami na rozprzestrzenianie się wirusów pomidora w zależności od sposobu ich transmisji. W stosunku do wirusów przenoszonych mechanicznie powszechnie prowadzono badania nad opryskiwaniem roślin różnymi substancjami będącymi w stanie wytworzyć na powierzchni liści warstwę ochronną. O posiadanie takich właściwości podejrzewano także niektóre środki ochrony roślin, zwłaszcza działające kontaktowo. Postanowiłem sprawdzić pod tym kątem możliwe działanie wybranych, powszechnie stosowanych fungicydów zalecanych w programach ochrony roślin (w tym pomidora pod osłonami) na zakażenie wirusem ToMV (wirus mozaiki pomidora), jako typowego rozprzestrzeniającego się mechanicznie w trakcie prowadzonych zabiegów agrotechnicznych. W ich trakcie wykazałem [publikacja **B2**], że substancje czynne zawarte w tych fungicydach nie wpływały na infekcyjność samego wirusa. Porównując efektywność zakażeń (mierzoną liczbą lokalnych plamek nekrotycznych na zakażonych liściach rośliny testowej jaką był tytoń *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi nc.) ustaliłem, że wbrew oczekiwaniom działający kontaktowo środek (Bravo 500 SC) nie wywołał znaczącego efektu ograniczenia infekcji. Efekt taki (ograniczenie o 57%) wystąpił natomiast po oprysku działającym włącznie Curzate M 72,5 WP, jednak był on krótkotrwały (występujący 4 godziny po zabiegu, nie występował po 2 dobach) i spowodowany nałożeniem się różnych czynników.

Po wystąpieniu w szklarni masowego porażenia roślin wirusem TSWV zaobserwowałem, że u roślin tytoniu opryskiwanych Curzate M 72,5 WP był wyraźnie mniejszy udział roślin wykazujących objawy chorobowe. Dlatego zbadałem także wpływ oprysków tym środkiem na dynamikę zakażeń i występowania objawów choroby u popularnych odmian pomidora [publikacja **B4**]. Badania potwierdziły różnice pomiędzy polskimi odmianami pomidora w preferencjach zasiedlania i żerowania na nich wektora wirusa, w tym przypadku wciornastka zachodniego (*Frankliniella occidentalis*). Ustaliłem także, że

w zależności od odmiany oprysk fungicydem może wywołać różne skutki. Zaobserwowałem zarówno brak szczególnego działania jak i zjawisko znacznego ograniczenia udziału roślin z widocznymi objawami, zwłaszcza na przestrzeni kilku tygodni w połowie eksperymentu. Dane z ostatnich tygodni obserwacji uwzględniające także rośliny bez objawów, jednak dające pozytywną reakcję w teście DAS ELISA wykazały, że ograniczenie udziału roślin z objawami było tylko czasowe. Efekt opóźnienia w wystąpieniu objawów mógł być wywołany zarówno zmianami w metabolizmie komórek (pod wpływem działających włącznie substancji czynnej fungicydu) jak i repelentnego działania fungicydu w stosunku do wektora wirusa. O możliwość posiadania takich właściwości podejrzewane są liczne środki ochrony roślin. Zagadnienia związane z tą tematyką okazały się być na tyle interesujące, że badania dotyczące wpływu stosowania fungicydów na rozprzestrzenianie się TSWV w uprawie pomidora pod osłonami kontynuowałem w ramach pracy doktorskiej.

Ważnym zagadnieniem z punktu widzenia epidemiologii wirusologicznej jest zjawisko zimowania niektórych patogenów wirusowych na roślinach dziko rosnących. Szczególnie interesujące jest to zagadnienie, kiedy dotyczy patogenów powszechnie uprawianych w kraju roślin a potencjalnym rezerwuarem wirusa są gatunki uważane w Polsce za inwazyjne. Taką rośliną jest często spotykany i masowo występujący rukiewnik wschodni (*Bunias orientalis*) u którego znaleziono pędy wiosenne z objawami sugerującymi infekcję wirusową. Jako najbardziej prawdopodobnego sprawcę wytypowano groźnego wirusa roślin kapustnych jakim jest TuMV (wirus mozaiki rzepy) i w tym kierunku prowadzono dalsze badania w których uczestniczyłem [publikacja B9]. Po wcześniejszym namnożeniu izolaty wirusa pochodzącego z chorych roślin przy zastosowaniu odpowiednich gatunków (reagujących systemicznie na infekcję tym wirusem), przeprowadzono jego identyfikację. Reakcja na roślinach wskaźnikowych w testach biologicznych oraz parametry stabilności wirusa w soku odpowiadały wirusowi TuMV. Stosując test serologiczny DAS ELISA potwierdziłem że to właśnie ten wirus jest patogenem sprawczym. Dodatkowo udało mi się zaobserwować i udokumentować (zdjęcia są przedstawione w artykule B9) w soku z chorych roślin obecność cząstek wirusa, które kształtem i rozmiarami (długość 675 – 710 nm) również odpowiadały wirusowi TuMV. Potwierdzona zatem została wstępna diagnoza, a rośliny rukiewnika wschodniego uznane zostały za naturalnego zimowego gospodarza wirusa TuMV. Udało się także wykazać, że roślina ta może być rezerwuarem wirusa przez wiele lat z rzędu.

Drugą grupą roślin objętych badaniami wirusologicznymi były wybrane rośliny sadownicze: borówka wysoka (*Vaccinium corymbosum*) i winorośl (*Vitis* sp.). Ponieważ są to rośliny których uprawy są wieloletnie a materiał szkółkarski rozmnażany jest wegetatywnie ochrona przed patogenami wirusowymi jest w ich przypadku szczególnie istotna. W latach 2010-2012 brałem udział w badaniach których celem było stwierdzenie statusu zdrowotnego borówki wysokiej uprawianej w Polsce. Badania te były prowadzone we współpracy z zespołem kierowanym przez prof. Elżbietę Paduch-Cichal (SGGW Warszawa) w ramach uzyskanego grantu MNiSW. W związku ze zwiększającym się zainteresowaniem tym gatunkiem wśród polskich producentów i zwiększaniem arealu jego uprawy pojawiła się potrzeba ustalenia norm związanych z wykrywaniem występujących na nich patogenów wirusowych. Przeprowadzono ocenę statusu zdrowotnego borówki na plantacjach w centralnej i południowo-wschodniej Polsce oraz dokonano weryfikacji metod wykrywania wirusów w warunkach naszego regionu [publikacja B12, B21]. W Krakowie i jego okolicach objęto nimi ponad 900 krzewów borówki (z ponad 30

odmian) pochodzących zarówno z plantacji produkcyjnych jak i amatorskich. Sprawdzano które terminy i fragmenty krzewów są najbardziej optymalne pod względem diagnostyki wirusologicznej. Prace w których uczestniczyłem obejmowały badania serologiczne części materiału z zastosowaniem testu serologicznego DAS ELISA na obecność takich wirusów porażających borówkę jak: BISCv (wirus oparzeliny borówki wysokiej), BISHV (wirus szoku borówki wysokiej), BSSV (wirus nitkowatości borówki wysokiej), PRMV (wirus mozaikowatej rozetkowatości brzoskwini) i TRSV (wirus pierścieniowej plamistości tytoniu). W wyniku testów stwierdzono w południowo-wschodniej Polsce wyraźnie mniejsze nasilenie występowania wirusów w roślinach borówki niż w części centralnej. Badania te pozwoliły stwierdzić w okolicach Krakowa obecność trzech wirusów: BSSV, PRMV i BISCv, najczęściej na krzewach odmian Darrow i Croatan. Najlepszym organem do wykrywania wirusów były liście a optymalnym terminem ich pobierania był miesiąc maj.

Równolegle prowadziłem także próby wykrywania i identyfikacji wirusów borówki wysokiej przy użyciu technik mikroskopii elektronowej (mikroskopia transmisyjna TEM). W tej części badań uwzględniłem także wirusa BRRSV (wirus czerwonej pierścieniowej plamistości borówki wysokiej) którego obecność stwierdzono wyłącznie w roślinach pochodzących z plantacji Polski centralnej. Ta część badań okazała się dużym wyzwaniem ze względu na liczne trudności w odpowiednim przygotowaniu materiału (abstrakt **D17**). Obiekty obserwowane w preparatach tkankowych nie dawały jednoznacznych odpowiedzi co do infekcji. Jedynie na nielicznych preparatach sporządzonych z soku porażonych roślin (*quick-dip*) udało się zaobserwować wirusokształtne formy odpowiadające morfologią i wymiarami cząsteczkom identyfikowanych wirusów (BRRSV i BSSV). Badania w których uczestniczyłem były pierwszymi, kompleksowymi dotyczącymi wirusów borówki wysokiej w Polsce. W ich trakcie pierwszy raz wykryto w Polsce wirusy BSSV, BISCv i TRSV w borówce przy użyciu testu ELISA oraz wirusa BRRSV w reakcji PCR.

Molekularną ocenę zdrowotności krzewów winorośli (*Vitis* sp.) pochodzących z kilku plantacji południowej Polski przeprowadziłem w ramach międzynarodowej współpracy z Uniwersytetem im. G. Mendla w Brnie (Czechy) z zespołem dr. Aleša Eichmaiera w Lednicach [publikacja **A4**]. Jednostka ta specjalizuje się w chorobach winorośli. Były one skierowane przede wszystkim na wykrycie w polskim materiale znanego z regionów winiarskich wirusa GPGV (Grapevine Pinot gris virus). W trakcie testów porównałem także pod względem efektywności wykrywania tego wirusa dwie pary starterów skierowanych na wykrywanie fragmentu kodującego białka MP/CP (movement protein i coat protein) oraz domeny RdRp (RNA-zależna polimeraza RNA) genu replikazy. Dodatkowo materiał został przetestowany w reakcji Multiplex RT-PCR na obecność takich wirusów jak: ArMV, GFLV, GLRaV-1, GLRaV- 2, GLRaV- 3, GVA i GFkV. Obecność wirusa GPGV stwierdziłem w 22% przebadanych próbek pochodzących z winnic południowej Polski. Dodatkowo w części tych krzewów występował również wirus GFkV (Grapevine fleck virus). Analiza filogenetyczna zsekwencjonowanych produktów PCR wykazała, że wykryty wirus GPGV reprezentuje znany z innych krajów Europy izolat nie dający na krzewach widocznych objawów choroby.

Badania te są jednymi z pierwszych i wciąż nielicznych, dotyczących wirusów winorośli w Polsce, zwłaszcza w jej południowych regionach. Szczególnym osiągnięciem było pierwsze potwierdzenie przeze mnie obecności wirusa GPGV w roślinach winorośli na plantacjach w Polsce.

## Liczbowe podsumowanie dorobku naukowego:

| Aktywność naukowa   | Przed<br>doktoratem | Po<br>doktoracie | Łącznie        |
|---|---------------------|------------------|----------------|
| <b>Publikacje naukowe razem (z osiągnięciem naukowym):</b>                |                     |                  |                |
| Liczba publikacji   | 4                   | 24               | 28             |
| Suma punktów MNiSW <sup>*1</sup>  | 9 /14               | 255 /325         | 264 /339       |
| Sumaryczny współczynnik wpływu (ang. <i>impact factor</i> ) <sup>*1</sup> | 0 /0                | 10,701 /12,549   | 10,701 /12,549 |
| Liczba cytowań wg. Web of Science (bez autocytowań)                       | 0                   | 9                | 9              |
| Indeks Hirscha wg. Web of Science   | 0                   | 2                | 2              |
| Liczba wszystkich cytowań (bez autocytowań) <sup>*2</sup>                 | 0                   | 26               | 26             |
| <b>Publikacje w czasopismach z bazy Journal Citation Reports (JCR):</b>   |                     |                  |                |
| Liczba publikacji   | 0                   | 6                | 6              |
| Suma punktów MNiSW <sup>*1</sup>  | 0 /0                | 160 /155         | 160 /155       |
| Sumaryczny współczynnik wpływu (ang. <i>impact factor</i> ) <sup>*1</sup> | 0 /0                | 10,701 /10,884   | 10,701 /10,884 |
| Liczba cytowań wg. Web of Science (bez autocytowań)                       | 0                   | 9                | 9              |
| Indeks Hirscha wg. Web of Science   | 0                   | 2                | 2              |
| <b>Pozostałe publikacje (z osiągnięciem naukowym):</b>                    |                     |                  |                |
| Liczba publikacji naukowych   | 4                   | 16               | 20             |
| (w tym prac przeglądowych)  | (0)                 | (2)              | (2)            |
| Rozdziały w monografiach  | 0                   | 2                | 2              |
| Suma punktów MNiSW <sup>*1</sup>  | 9 /14               | 95 /170          | 104 /184       |
| (IF) <sup>*1, *3</sup>  | 0 /0                | 0 /1,665         | 0 /1,665       |
| Liczba cytowań innych niż WoS (bez autocytowań) <sup>*4</sup>             | 0                   | 17               | 17             |
| Notatki popularno-naukowe   | 0                   | 1                | 1              |
| <b>Aktywny udział w konferencjach i seminariach:</b>                      |                     |                  |                |
| międzynarodowych  | 0                   | 4                | 4              |
| krajowych   | 2                   | 11               | 13             |
| Referaty konferencyjne  | 1                   | 5                | 6              |
| Postery konferencyjne   | 2                   | 36               | 38             |
| <b>Inne:</b>  |                     |                  |                |
| Kierownictwo projektów  | 0                   | 1                | 1              |
| Wykonawstwo projektów   | 0                   | 6                | 6              |
| Ekspertyzy lub opracowania na zamówienie                                  | 0                   | 9                | 9              |
| Referaty popularno-naukowe  | 2                   | 5                | 7              |
| Promotorstwo prac magisterskich   | 0                   | 4                | 4              |
| Promotorstwo prac inżynierskich   | 0                   | 8                | 8              |

\*1 - wartości zgodnie z rokiem opublikowania /wartości za rok 2016

\*2 - cytowania artykułów łącznie wg. WoS i innych źródeł  
(Google Scholar, ResearchGate i inne, patrz lista zał. 4, II, I)

\*3 - dla artykułu B5, IF od 2007 r. (patrz zał. 4, II, D)

\*4 - cytowania inne niż WoS (Google Scholar, ResearchGate i inne, patrz zał. 4, II, I)

Zbigniew Gajewski