Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu

Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych

pod redakcją

Grażyny Łaskiej

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu.

Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych

POLSKIE TOWARZYSTWO BOTANICZNE

Oddział w Białymstoku

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu.

Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych

pod redakcją

Grażyny Łaskiej

Białystok 2017

Redakcja naukowa
Grażyna Łaska

Recenzenci

dr hab. **Andrzej Bajguz**, prof. UwB, dr hab. **Agnieszka Gniazdowska**, prof. SGGW, prof. dr hab. **Czesław Hołdyński**, dr hab. **Katarzyna Jadwiszczak**, dr **Monika Kozłowska**, dr hab. **Grażyna Łaska**, prof. PB, dr hab. **Ewelina Ratajczak**, prof. dr hab. **Elżbieta Romanowska**

Copyright © by: Grażyna Łaska oraz autorzy poszczególnych artykułów, 2017

Korekta językowa:
Urszula Glińska

Opracowanie techniczne:
Agencja Wydawnicza EkoPress

Projekt okładki:
Agencja Wydawnicza EkoPress / fot.: **Grażyna Łaska**

Wydawca:
Polskie Towarzystwo Botaniczne
Al. Ujazdowskie 4, 00-478 Warszawa
http://pbsociety.org.pl

Białystok, 2017

e-ISBN: 978-83-945205-6-4
p-ISBN: 978-83-945205-7-1

Publikacja jest dostępna na licencji Creative Commons
Uznanie autorstwa 4.0 Międzynarodowe
(treść licencji dostępna na stronie http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Spis treści

Wstęp 7

1. **Justyna Święczkowska, Czesław Hołdyński**, Przemiany florystyczne zbiorowisk nieleśnych Puszczy Boreckiej i ich konsekwencje przyrodnicze 9
2. **Aleksander Smoliga**, Zróżnicowanie leśnych monokultur świerkowych Pomorza Zachodniego 33
3. **Grażyna Łaska**, Różnorodność biologiczna doliny rzeki Czarnej a koncepcja urbanistyczna jej przestrzennego zagospodarowania w miejscowości Katrynka 50
4. **Danuta Drzymulska**, Wymowa ekologiczna szczątków mchów w późnoglacjalnych i holoceńskich osadach torfowych północno-wschodniej Polski 64
5. **Grażyna Łaska, Aneta Sienkiewicz**, Populacja sasanki otwartej *Pulsatilla patens* (L.) Mill. w Puszczy Białowieskiej i w Puszczy Knyszyńskiej – stan zachowania, zagrożenie i kierunki ochrony 75
6. **Ewa Oleńska, Wanda Małek**, Brodawki korzeniowe jako organy symbiozy roślin bobowatych z ich diazotroficznymi mikrosymbiontami – rozwój, budowa i funkcjonowanie w warunkach fizjologicznych oraz stresu oksydacyjnego 87
7. **Grażyna Łaska, Natalia Mioduszewska, Marcin Stocki, Mirosław Angielczyk**, Metabolity wtórne *Polemonium caeruleum* L. i *Ostericum palustre* (Besser) Hoffm – ich aktywność biologiczna oraz znaczenie i wykorzystanie w ziołolecznictwie 101
8. **Zofia Tyszkiewicz**, Zmiany zachodzące w strukturach zbiorowisk grzybów mikroskopijnych w rozkładającej się ściole spod świerka pospolitego *Picea abies* (L.) H. Karst 115
9. **Grażyna Łaska, Aneta Sienkiewicz, Marlena Łukasiuk, Jason D. Hoeksema, Mélanie Roy, Amber Horning, Matt Abbott, Claire Tran, Josh Mattox,** Zmienność morfologiczna grzybów ektomikoryzowych w ryzosferze *Pulsatilla patens* (L.) Mill. i *Pinus sylvestris* L. w aspekcie interakcji międzygatunkowych 127
10. **Urszula Czyżewska, Marek Bartoszewicz, Magdalena Siemieniuk, Adam Tylicki**, Zróżnicowanie biologiczne grzybów z rodzaju *Malassezia* a patogeneza zakażeń i wrażliwość szczepów na leki 148

11. **Paweł Rogowski, Wioleta Wasilewska-Dębowska, Aleksandra Urban, Elżbieta Romanowska**, Absorpcja światła i budowa systemów antenowych u organizmów fotosyntetycznych eukariotycznych 160

12. **Katarzyna Ciąćka, Paweł Staszek, Olga Andrzejczak, Urszula Krasuska, Karolina Duranowska, Agnieszka Gniazdowska**, Katabolizm poliamin jako odpowiedź roślin na warunki stresowe 172

13. **Barbara Bokina, Andrzej Bajguz, Alicja Piotrowska-Niczyporuk**, Aktywność biologiczna roślinnych poliamin 185

14. **Grażyna Łaska, Aneta Szymajda**, Wykorzystanie biomasy typu *cow dung* do celów energetycznych 197

15. **Marta Talarek-Karwel, Andrzej Bajguz**, Perspektywy zastosowania brassinosteroidów w rolnictwie i ochronie środowiska 209

Wstęp

„Kto stoi w miejscu – ten się cofa"
Johann Wolfgang von Goethe

Prezentowana Państwu monografia jest już szóstą pozycją wydawniczą z cyklu „Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu" przedstawiającą wyniki prowadzonych badań na różnorodnych poziomach organizacji życia biologicznego. W tegorocznej edycji szczególną uwagę zwracamy na bioróżnorodność oraz jej znaczenie w interdyscyplinarnych i aplikacyjnych badaniach biologicznych. Problematyka zawarta w monografii przedstawia złożoność funkcjonowania przyrody w różnorodnych układach ekologicznych, w zakresie badań geobotanicznych, paleobotanicznych, demograficznych, mykologicznych, farmaceutycznych, toksykologicznych i fizjologicznych. Jest to doskonały przykład interdyscyplinarnego i praktycznego podejścia do zagadnień ochrony przyrody oraz racjonalnego gospodarowania jej zasobami, do oceny obecnego stanu zachowania badanego poziomu życia i określenia jego zagrożenia, a także do podejmowania konkretnych działań na rzecz ochrony i monitorowania zachodzących zmian.

Poszczególne rozdziały monografii prezentują różnorodność biologiczną w świetle najnowszych badań z zakresu fitosocjologii i ekologii populacji, paleopalinologii i botaniki farmaceutycznej oraz biologii rozwoju roślin i grzybów, biochemii i ekofizjologii. Prezentowane zagadnienia empiryczne w aspekcie zmienności i zachowania bogactwa gatunkowego zbiorowisk roślinnych, roślin i grzybów są realnym wyrazem integracji wielu środowisk naukowych i podjętych praktycznych działań w celu zachowania równowagi przyrodniczej i trwałości funkcjonowania podstawowych procesów przyrodniczych na wszystkich poziomach organizacji życia.

Życząc Państwu miłej lektury, mam nadzieję, że monografia przyczyni się do kreatywnej dyskusji i kontynuacji badań interdyscyplinarnych w zakresie różnorodności biologicznej, bądź stanie się przyczynkiem do poszukiwania nowych i niezgłębionych dotąd kierunków badań o znaczeniu aplikacyjnym.

Grażyna Łaska

Białystok, grudzień 2017 r.

1 Przemiany florystyczne zbiorowisk nieleśnych Puszczy Boreckiej i ich konsekwencje przyrodnicze

Justyna **Święczkowska**, Czesław **Hołdyński**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
Katedra Botaniki i Ochrony Przyrody

Plac Łódzki 1, 10-727 Olsztyn
e-mail: hold@uwm.edu.pl

Streszczenie: W latach 2010–2013, w granicach kompleksu leśnego Puszcza Borecka (Pojezierze Mazurskie), zrealizowano badania florystyczno-fitosocjologiczne na 201 obiektach z roślinnością nieleśną. Badaniami objęto zbiorowiska należące do klasy *Molinio-Arrhenatheretea*, płaty szuwarów z klasy *Phragmitetea*, które są lub były kośnie użytkowane, roślinność mszysto-torfowiskową z klasy *Scheuchzerio-Caricetea nigrae*, roślinność nieleśną torfowisk wysokich z klasy *Oxycocco-Sphagnetea*, murawy z klasy *Koelerio-Corynephoretea canescentis* oraz zbiorowiska nieleśne powstałe w wyniku niewłaściwego użytkowania bądź jego zaniechania. W pracy podjęto próbę identyfikacji głównych niebezpieczeństw zagrażających istnieniu tych zbiorowisk, a także przewidzenia ich konsekwencji przyrodniczych, wykorzystując do tego celu tzw. wskaźnik zaburzeń Z (Kącki 2007, 2012). Zaobserwowane dysproporcje wynikają z intensyfikacji lub ekstensyfikacji pratotechniki, zaniechania użytkowania kośnego lub pastwiskowego, melioracji odwadniających, wtórnego zabagnienia obiektów, celowego lub spontanicznego zalesiania, przeorywania, podsiewu gatunków i odmian roślin hodowlanych.

W badanej grupie roślinności wyróżniono 45 zespołów i 22 zbiorowiska roślinne. Analiza wskaźników zaburzeń w zbiorowiskach z rzędu *Molinietalia* wykazała, że największe zniekształcenia w składzie gatunkowym występują w zespołach: *Angelico-Cirsietum oleracei*, *Filipendulo-Geranietum* i *Lysimachio-Filipenduletum*. Są to zbiorowiska, gdzie, co najmniej 50% badanych płatów posiada wskaźnik Z > 1. Wyliczone wskaźniki zaburzeń dla roślinności łąkowej z rzędu *Arrhenatheretalia* wykazały, że największe zmiany w składzie gatunkowym występują w płatach: *Arrenatheretum elatioris alopecuretosum pratense* i *A. e. luzuletosum campestris*. Najmniejszy udział zaburzonych płatów stwierdzono w zbiorowiskach ze związku *Magnocaricion*. W przypadku większości badanych zbiorowisk, występują istotne korelacje pomiędzy wartościami wskaźnika zaburzeń Z a wartościami wskaźników ekologicznych, w szczególności pomiędzy wskaźnikiem wilgotności F i zasobności podłoża w azot N.

Współcześnie głównymi źródłami zagrożeń wobec zbiorowisk nieleśnych są: całkowite zaprzestanie ich użytkowania, zmiany stosunków wodnych oraz intensyfikacja gospodarki łąkowej.

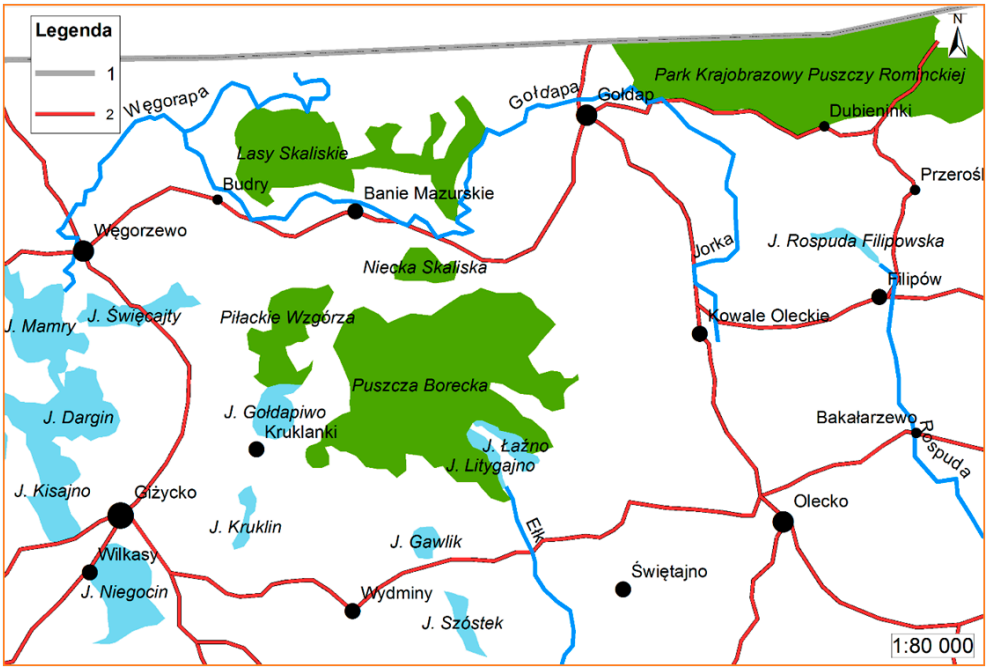
Słowa kluczowe: roślinność łąkowa, zaburzenia florystyczne zbiorowisk łąkowych, Puszcza Borecka

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 9-32

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

Jednymi z ostatnich oaz półnaturalnych zbiorowisk roślinnych, które zachowały skład gatunkowy wynikający z jego formowania przez setki lat pod wpływem tradycyjnej gospodarki łąkarskiej, są łąki usytuowane w zasięgu dużych, zwartych kompleksów leśnych. W północno-wschodniej Polsce jednym z takich obiektów jest Puszcza Borecka, w obszarze której znaczna część użytków zielonych zachowała ekstensywny charakter, stanowiąc ostoję dla wielu ginących typów fitocenoz oraz gatunków roślin i zwierząt (Ryc. 1.1).



Rycina 1.1. Położenie Puszczy Boreckiej: 1 – granica Polski; 2 – drogi

Zbiorowiska nieleśne o charakterze łąk, pastwisk i szuwarów wielkoturzycowych są istotnym elementem przyrody i krajobrazu na terenie całego kraju. Ich roślinność uważa się za antropogeniczną, w której zbiorowiska swoje pochodzenie i skład florystyczny zawdzięczają gospodarce człowieka (Kucharski 1999; Spychalski i in. 2011; Kącki 2012; Zarzycki, Korzeniak 2013; Swędrzyński 2014). Fakt, iż powstały one pod wpływem wielowiekowej tradycyjnej gospodarki łąkarskiej sprawia, że każda zmiana sposobu użytkowania odbija się na ich składzie gatunkowym, najczęściej prowadząc do jego ubożenia. Proces wymierania gatunków flory łąko-

wej ze szczególnym nasileniem występuje w krajach o intensywnym rolnictwie (Reidsma i in. 2006; Niedrist i in. 2009; Wasilewski 2009; Bomanowska, Kiedrzyński 2011, Ziaja, Wójcik 2017).

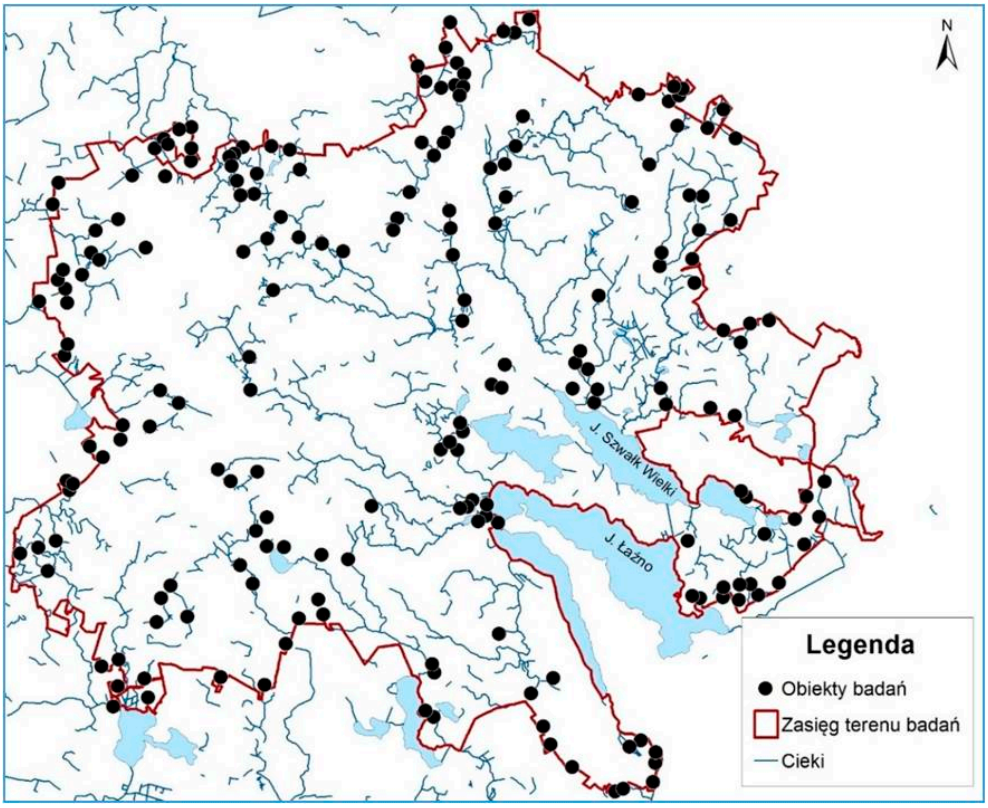
Postępująca w Polsce intensyfikacja rolnictwa, realizowana poprze wprowadzanie nowych metod uprawy, wysokie nawożenie mineralne, podsiewy gatunków i odmian traw hodowlanych oraz odwadnianie spowodowały, że obecnie zanikają naturalne i półnaturalne ekosystemy (Kącki 2009). W związku z tym istnieje pilna potrzeba objęcia ochroną najcenniejszych obszarów łąkowych i szuwarowych, odznaczających się mało zmienionym składem gatunkowym. Na konieczność ochrony łąk i szuwarów, zarówno w Polsce, jak i w innych krajach Europy, zwracają uwagę liczni autorzy (Guziak, Lubaczewska 2001; Michalska-Hejduk 2001; Michalska-Hejduk 2004; Kącki 2009; Lorens 2012; Kulik 2014; Kotańska i in 2015; Ziaja, Wójcik 2017). Ochrona zbiorowisk nieleśnych jest niezwykle istotna również dla zachowania ostoi i żerowisk zwierząt, zwłaszcza ptaków i bezkręgowców (Orłowski, Górka 2010; Tryjanowski 2011).

2. Teren i metody badań

Badaniami objęto zbiorowiska należące do klasy *Molinio-Arrhenatheretea*, płaty szuwarów z klasy *Phragmitetea*, które są lub były kośnie użytkowane, roślinność mszysto-torfowiskową z klasy *Scheuchzerio-Caricetea nigrae*, roślinność nieleśną torfowisk wysokich z klasy *Oxycocco-Sphagnetea*, murawy z klasy *Koelerio-Corynephoretea canescentis* oraz zbiorowiska nieleśne powstałe w wyniku niewłaściwego użytkowania bądź jego zaniechania. Badaniami objęto wszystkie zbiorowiska nieleśne, w granicach zwartego kompleksu leśnego Puszczy Boreckiej, należące do nadleśnictw: Borki i Czerwony Dwór. Jest to 201 obiektów, które łącznie zajmują 718,95 ha (Ryc. 1.2). Powierzchnia poszczególnych obiektów jest silnie zróżnicowana i wynosi od 0,2 do 28,87 ha.

Na obiektach tych w latach 2010–2013 wykonano 996 zdjęć fitosocjologicznych we wszystkich wyróżniających się pod względem fizjonomii płatach roślinności. Powierzchnia zdjęć obejmowała 25 m^2, co jest zgodne z wielkością reprezentatywną dla fitocenoz łąkowych (Westhoff, Maarel 1973). Na podstawie wyników przeprowadzonych analiz numerycznych oraz klasycznej analizy danych fitosocjologicznych, stosowanych w Europie Środkowej (Dzwonko 2008; Piernik 2008), wyróżniono 67 zbiorowisk roślinności nieleśnej o różnorodnej randze syntaksonomicznej. W identyfikacji przynależności syntaksonomicznej grup zdjęć wyróż-

nionych podczas analizy wyników klasyfikacji numerycznej, posłużono się między innymi, pracami Pawłowskiego (1972), Kucharskiego i Michalskiej-Hejduk (1994), Załuskiego (1995) i Matuszkiewicza (2011).



Rycina 1.2. Rozmieszczenie obiektów objętych badaniami

Do oceny przemian florystycznych (zaburzeń) występujących w badanych fitocenozach oraz do określenia stopnia ich natężenia wykorzystano wskaźnik zaburzeń Z (Kącki 2007; 2012). Wskaźnik ten pozwala na określenie proporcji udziału gatunków z poszczególnych grup syntaksonomicznych oraz wpływu wybranych taksonów na strukturę oraz skład gatunkowy analizowanych płatów. Wskaźnik Z obliczono według poniższego wzoru:

$$Z = \frac{\frac{d}{1+N} + A + B^2}{C}$$

gdzie: d – suma pokrycia gatunków charakterystycznych rzędu i klasy, do których należy zbiorowisko, pomnożona przez liczbę tych gatunków; N – suma pokrycia gatunków charakterystycznych związku i zespołu, do których należy zbiorowisko, pomnożona przez liczbę tych gatunków; A – suma pokrycia gatunków towarzyszących, pomnożona przez liczbę tych gatunków; B – suma pokrycia gatunków charakterystycznych wskaźnikowych zaburzeń i zmian degeneracyjnych, pomnożona przez liczbę tych gatunków; C – suma pokrycia gatunków charakterystycznych zespołu, związku, rzędu i klasy, do których należy zbiorowisko, pomnożona przez liczbę tych gatunków. Wartość wskaźnika dla zbiorowisk niezdegenerowanych mieściła się w przedziale od 0 do 1. Płaty roślinności, dla których wartość wskaźnika przekroczyła 1, uznano za nietypowe (Kącki 2012).

Za gatunki wskaźnikowe degeneracji łąk uznano stwierdzone w płatach juwenilne formy drzew i krzewów, neofity, gatunki segetalne, gatunki nitrofilne (*Urtica dioica*, *Aegopodium podagraria*, *Rumex obtusifolius*, *Antriscus sylvestris*, *Artemisia vulgaris, Arctium tomentosum, Arctium lappa, Arctium minus*, *Cirsium arvense*). W przypadku łąk wilgotnych, należących do rzędu *Molinietalia*, jako grupę gatunków wskaźnikowych degeneracji uznano również ekspansywne taksony charakterystyczne dla klasy *Phragmitetea* (*Phalaris arundinacea*, *Carex acutiformis*, *Carex gracilis*), których obecność wskazuje na wtórne zabagnienie terenu. Wskaźnik Z obliczono 5-krotnie dla łąk z rzędu *Arrhenatheretalia* i 6-krotnie dla zbiorowisk z rzędu *Molinietalia*, uwzględniając w zmiennej B:

- łączny udział drzew i krzewów, neofitów, gatunków nitrofilnych oraz gatunków szuwarowych;
- wyłącznie udział drzew i krzewów;
- wyłącznie udział gatunków uznawanych za inwazyjne na terenie Polski (Tokarska-Guzik i in. 2012);
- wyłącznie udział gatunków segetalnych;
- wyłącznie udział gatunków nitrofilnych;
- wyłącznie udział ekspansywnych gatunków szuwarowych (uwzględniono jedynie dla zbiorowisk z rzędu *Molinietalia*).
- Za gatunki wskaźnikowe degeneracji szuwarów i torfowisk nieleśnych uznano drzewa i krzewy stwierdzone w płatach oraz gatunki nitrofilne (*Urtica dioica*, *Aegopodium podagraria*, *Rumex obtusifolius*, *Antriscus sylvestris*, *Artemisia vulgaris*, *Arctium tomentosum*, *Arctium lappa*, *Arctium minus*, *Cirsium arvense*). Wskaźnik Z dla szuwarów i torfowisk niskich obliczono 3-krotnie, uwzględniając w zmiennej B:
- łączny udział drzew i krzewów oraz gatunków nitrofilnych;
- wyłącznie udział drzew i krzewów;

- wyłącznie udział gatunków nitrofilnych.

W kolejnym etapie analiz określono procentowy udział płatów zdegradowanych w poszczególnych typach zbiorowisk, a wśród nich oszacowano udział płatów zaburzonych w wyniku ekspansji różnorodnych grup gatunków. W celu sprawdzenia zależności pomiędzy wskaźnikiem Z a wskaźnikami ekologicznymi (L, F, R, N), w programie *Statistica* 10 (Statsoft Inc. 2011) wyliczono dla nich wskaźniki korelacji r-Pearsona.

3. Wyniki badań

3.1. Nieleśne zbiorowiska roślinne wyróżnione w Puszczy Boreckiej

Zbiorowiska nieleśne Puszczy Boreckiej wykazują bardzo duże zróżnicowanie. Na terenach, które są lub były w ciągu ostatnich kilku lat użytkowane jako łąki kośne lub pastwiska, wyróżniono 45 zespołów i 22 zbiorowiska roślinne (Tab. 1.1). Tak duże zróżnicowanie roślinności nieleśnej jest wypadkową ekstensywnej gospodarki kośno-pastwiskowej, realizowanej na terenie większości badanych obiektów oraz złożonej mozaiki mikrosiedlisk. Zbiorowiska te są podstawą do analiz pod kątem zniekształceń florystycznych (zaburzeń) wynikających ze sposobu użytkowania lub zmian zachodzących w środowisku.

Tabela 1.1. Powierzchnia i procentowy udział wyróżnionych nieleśnych zbiorowisk roślinnych w Puszczy Boreckiej

Klasa	Zbiorowisko roślinne	Powierzchnia [ha]	Udział [%]
Phragmitetea	*Acoretum calami* KOBENDZA 1948	0,26	0,04
	Phragmitetum australis (GAMS 1927) SCHMALE 1939	3,08	0,43
	Typhetum latifoliae SOÓ 1927	0,29	0,04
	Equsetum fluviatilis STEFFEN 1931	0,14	0,02
	Eleocharitetum palustris ŠENNIKOV 1919	0,04	0,01
	Zbiorowisko z *Rorippa amphibia**	0,81	0,11
	Caricetum acutiformis SAUER 1937	26,8	3,5
	Caricetum gracilis(GRAEBN. et HUECK 1931) R. TX. 1937	6,94	0,97
	Caricetum ripariae SOÓ 1928	1,96	0,27
	Caricetum rostratae RÜBEL 1912	0,22	0,03
	Caricetum vulpinae NOWIŃSKI 1928*	0,99	0,14
	Caricetum vesicariae BR.-BL. et DENIS. 1926	13,15	1,84

Klasa	Zbiorowisko roślinne	Powierzchnia [ha]	Udział [%]
	Caricetum elatae KOCH 1926	0,29	0,04
	Caricetum appropinquatae (KOCH 1926) SOÓ 1938*	2,73	0,35
	Phalaridetum arundinaceae (KOCH 1926 n.n.) LIB. 1931	22,6	3,17
	Iridetum pseudacori EGGLER 1933	0,66	0,09
	Sparganio-Glycerietum fluitantis BR.-BL. 1925 n.n.	0,5	0,07
	Łącznie	80,15	11,5
Scheuchzerio-Caricetea; Oxycocco-Sphagnetea	*Caricetum limosae* BR.-BL. 1921*	0,92	0,07
	Rchynchosporetum albae KOCH 1926	1,06	0,09
	Caricetum lasiocarpae VANDEN BERGH. ap. LEBRUN et all 1949	0,06	0,01
	Carici canescentis-Agrostietum caninae R. TX. 1937*	2,25	0,32
	Zbiorowisko z *Carex nigra**	2,83	0,4
	Calamagrostietum neglectae STEFF. 1931*	3,1	0,43
	Zbiorowisko *Eriophorum vaginatum-Sphagnum fallax* HUECK 1928 pro ass.	0,4	0,06
	Łącznie	9,44	1,33
Molinio-Arrhenatherea	*Filipendulo-Geranietum* W. KOCH 1926	8	1,12
	Valeriano-Filipenduletum SISS. in. WESTCH. et. all. 1946*	0,14	0,02
	Lysimachio-Filipenduletum BAL.-TUL. 1978*	1,95	0,27
	Filipendulo-Menthetum longifoliae ZLINSKA 1989*	0,13	0,02
	Filipendulo-Epilobietum hirsuti SOUGNEZ 1957*	0,15	0,02
	Scirpetum sylvatici RALSKI 1931	15,42	2,16
	Cirsietum rivularis NOWIŃSKI 1927	30,33	4,25
	Angelico-Cirsietum oleracei R.TX. 1937 em. OBERD. 1967	23,15	3,24
	Cirsietum palustris HRYNCEWICZ 1959*	0,32	0,04
	Epilobio-Juncetum effusi OBERD. 1957	17,63	2,47
	Caricetum cespitosae (STEFFEN 1931) KLIKA et ŠMARDA 1940*	2,6	0,36
	Deschampsietum caespitosae HORVATIĆ 1930*	5,26	0,74
	Equisetum palustris STEFFEN 1931*	0,51	0,07
	Holcetum lanati ISSLER 1936*	13,11	1,84
	Alopecuretum pratensis (REGEL 1925) STEFFEN 1931*	87,04	12,19
	Prunello-Plantaginetum FALIŃSKI 1963	0,13	0,02
	Ranunculo-Alopecuretum geniculati R. TX. 1937	0,28	0,04
	Rorippo-Agrostietum stoloniferae (MORR 1958) OBERD. et TH. MÜLL. 1961*	2,83	0,4
	Zbiorowisko z *Ranunculus repens**	3,95	0,55
	Arrhenatheretum elatioris BR.-BL. ex SCHERR. 1925*	155,81	21,82

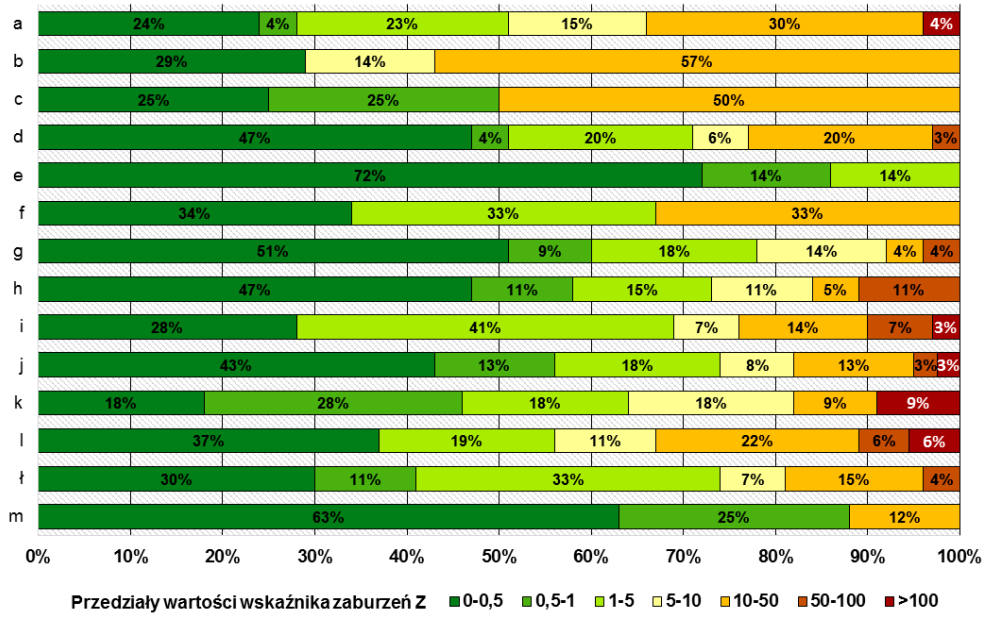
Klasa	Zbiorowisko roślinne	Powierzchnia [ha]	Udział [%]
	Poo-Festucetum rubrae FIJAŁKOWSKI 1962*	44,11	6,18
	Lolio-Cynosuretum R.TX. 1947	88,4	12,38
	Zbiorowiska łąk uprawnych*	68,33	9,57
	Łącznie	569,57	79,89
Koelerio-Corynephoretea	Murawy napiaskowe*	1,61	0,2
	Łącznie	1,61	0,2
Artemisietea vulgaris; Agropyretea repentis	Zbiorowisko z *Eupatorium cannabinum**	0,3	0,04
	Zbiorowisko z *Solidago canadensis**	0,76	0,12
	Zbiorowisko z *Chaerophyllum aromaticum**	2,58	0,36
	Zbiorowisko z *Antriscus sylvestris**	4,02	0,56
	Urtico-Aegopodietum podagrariae (R.TX. 1963 n.n.) em. DIERSCHKE 1974	9,12	1,28
	Zbiorowisko z *Urtica dioica**	13,5	1,89
	Zbiorowisko z *Rumex obtusifolius**	1,5	0,2
	Zbiorowisko z *Lupinus polyphyllus**	4,23	0,59
	Zbiorowisko z *Cirsium arvense**	4,48	0,63
	Zbiorowisko z *Bromus inermis**	2,07	0,29
	Zbiorowisko z *Calamagrostis epigeios*	0,61	0,06
	Zbiorowisko z *Chamaenerion angustifolium**	0,69	0,01
	Łącznie	45,47	6
Zbiorowiska wyłączone z analiz	Pozostałe	11,24	1,1
	Łącznie	718,95	100

* – zbiorowiska dotychczas nie podawane z terenu Puszczy Boreckiej

Źródło: badania własne.

3.2. Natężenie i główne przyczyny zaburzeń roślinności z rzędu *Molinietalia*

Różnorodny charakter zabiegów gospodarczych, realizowanych na łąkach i turzycowiskach, intensyfikacja lub ekstensyfikacja pratotechniki, zaniechanie użytkowania kośnego lub pastwiskowego, melioracje odwodniające, wtórne zabagnienie terenu, celowe lub spontaniczne zalesianie, przeorywanie czy podsiew wywołują liczne zniekształcenia w składzie gatunkowym badanych płatów roślinności, co w niniejszej pracy definiuje się jako zaburzenie. Objawia się to spadkiem udziału gatunków charakterystycznych zespołów i związków oraz wzrostem udziału gatunków towarzyszących, które są nietypowe dla danej jednostki syntaksonomicznej i są przyjęte za gatunki wskaźnikowe różnych typów zaburzeń.



Rycina 1.3. Procentowy udział płatów roślinności z rzędu *Molinietalia* o różnym wskaźniku zaburzeń

Objaśnienia: a – *Filipendulo-Geranietum*, b – *Lysimachio-Filipenduletum*, c – *Valeriano-Filipenduletum*, d – *Scirpetum sylvatici*, e – *Caricetosum cespitosae*, f – *Cirsietum palustris*, g – *Cirsietum rivularis typicum*, h – *Cirsietum rivularis caricetosum fuscae*, i – *Angelico-Cirsietum oleracei*, j – *Epilobio-Juncetum effusi typicum*, k – *Epilobio-Juncetum effusi caricetosum fuscae*, l – *Alopecuretum pratensis typicum*, ł – *Alopecuretum pratensis phalaridetosum arundinaceae*, m – *Deschampsietum cespitosae*

Źródło: badania własne.

Analiza wskaźników zaburzeń w zbiorowiskach z rzędu *Molinietalia* wykazała, że największe zniekształcenia w składzie gatunkowym występują w zespołach: *Angelico-Cirsietum oleracei*, *Filipendulo-Geranietum* i *Lysimachio-Filipenduletum*. Są to zbiorowiska, gdzie, co najmniej 50% badanych płatów posiada wskaźnik Z > 1 (Ryc. 1.3 a, b, i). Do najmniej zaburzonych zbiorowisk łąk wilgotnych należą: *Caricetum caespitosae*, *Scirpetum sylvatici*, *Cirsietum rivularis caricetosum fuscae*, *Cirsietum rivularis typicum*, *Epilobio-Juncetum effusi typicum* i *Deschampsietum cespitosae*. Ponad połowa płatów tych fitocenoz, ze wskaźnikiem Z < 1, nie wykazuje zniekształceń w składzie gatunkowym (Ryc. 1.3 d, e, g, h, j, m).

Tabela 1.2. Współczynniki korelacji r pomiędzy wskaźnikami ekologicznymi i wskaźnikiem zaburzeń Z dla zbiorowisk z rzędu *Molinietalia*

	Średnia	Odchyl. Std.	Światło	Wilgotność	Odczyn gleby	Zawartość azotu
Wskaźnik Z (*Filipendulo-Geranietum)*	18,81	45,57	0,12	0,03	-0,13	0,02
Wskaźnik Z (*Lysimachio-Filipenduletum*)	11,95	10,68	0,19	-0,06	0,13	-0,02
Wskaźnik Z(*Valeriano-Filipenduletum*)	8,45	9,84	-0,95*	0,27	-0,25	-0,10
Wskaźnik Z *(Scirpetum sylvatici)*	8,66	15,46	0,05	-0,39*	-0,02	0,57**
Wskaźnik Z (*Cirsietum rivularis caricetosum fuscae)*	9,02	20,06	-0,38	-0,06	0,32	0,52**
Wskaźnik Z (*Cirsietum rivularis typicum)*	6,00	16,01	-0,19	-0,43*	0,36	0,47*
Wskaźnik Z (*Epilobio-Juncetum effusi typicum)*	11,62	35,02	-0,16	0,46*	-0,02	0,02
Wskaźnik Z (*Epilobio-Juncetum caricetosum fuscae*)	20,81	34,00	0,17	0,02	0,3	-0,22
Wskaźnik Z (*Angelico-Cirsietum oleracei)*	21,63	58,25	-0,03	-0,48**	0,37	0,62***
Wskaźnik Z (*Alopecuretum pratensis phalaridetosum)*	8,55	18,89	-0,03	0,29	0,30	0,18
Wskaźnik Z (*Alopecuretum pratensis typicum)*	16,19	35,00	0,10	-0,25	0,08	0,42*

Uwaga: współczynniki korelacji są istotne z p < 0,05*, p < 0,01**, p < 0,001***

Źródło: badania własne.

Przeprowadzone analizy korelacji wykazały, że w przypadku większości zbiorowisk występują istotne zależności pomiędzy wskaźnikiem zaburzeń Z a wskaźni-

kami ekologicznymi. Najsilniejszą zależność stwierdzono pomiędzy wartością wskaźnika Z a wskaźnikami wilgotności F i zawartości azotu w glebie N, w fitocenozach: *Scirpetum sylvatici*, *Angelico-Cirsietum oleracei* i *Cirsietum rivularis typicum* (Tab. 1.2).

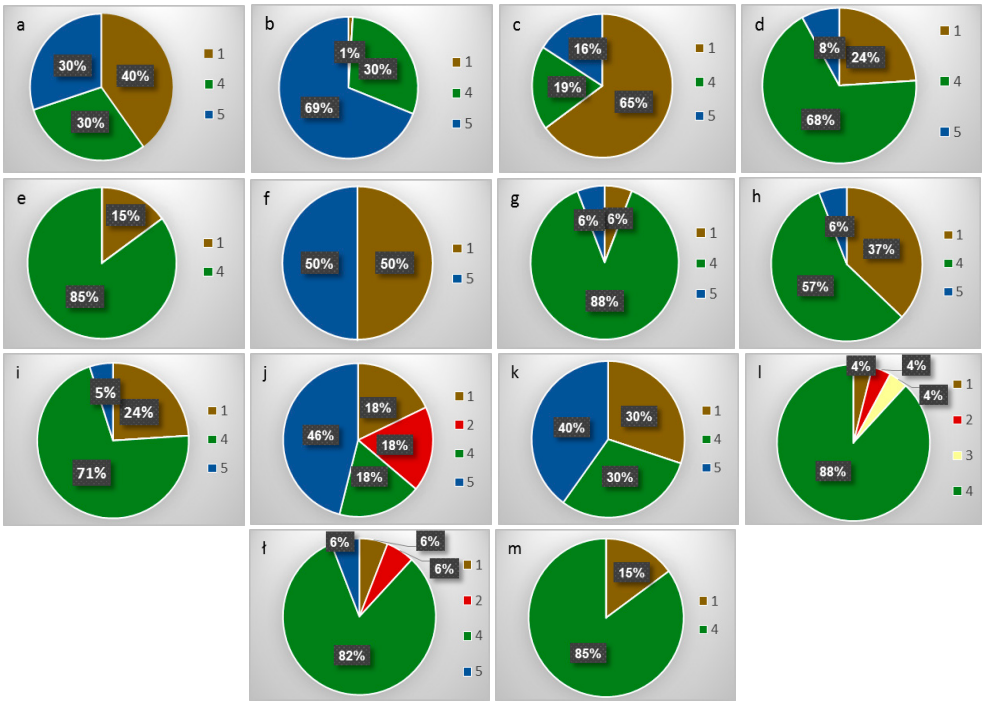
Jednocześnie w przypadku tych zbiorowisk istnieje zależność pomiędzy spadkiem wartości wskaźnika wilgotności i wzrostem wartości wskaźnika zasobności podłoża w azot, które może wynikać z zachodzących procesów murszenia lub mineralizacji nagromadzonej nekromasy roślinnej (brak koszenia lub pozostawianie na gruncie skoszonej fitomasy).

W obrębie płatów: *Scirpetum sylvatici*, *Angelico-Cirsietum oleracei* i *Cirsietum rivularis typicum*, które uznano za zaburzone, najwięcej z nich wyróżnia się dużym udziałem ekspansywnych gatunków nitrofilnych ($Z_{(nitrof)}$) – 71% (Ryc. 1.4 d, g, i). Potwierdza to istnienie zależności pomiędzy wskaźnikiem zaburzeń a wskaźnikami wilgotności i zasobności podłoża w azot.

Dodatnią korelację pomiędzy wskaźnikiem Z a wilgotnością podłoża F stwierdzono w przypadku płatów *Epilobio-Juncetum effusi typicum* (Tab. 1.2). Obserwowana zależność może wskazywać na postępujący proces wtórnego zabagnienia w płatach tego zbiorowiska. Potwierdzeniem tego jest największy udział płatów, w których odnotowano znaczne pokrycie przez ekspansywne gatunki szuwarowe (Ryc. 1.4 j).

Stwierdzono również istnienie dodatniej zależności pomiędzy wskaźnikiem Z a wzrostem zasobności podłoża w azot w płatach *Cirisetum rivularis caricetosum fuscae* i *Alopecuretum pratensis typicum* (Tab. 1.2). W zbiorowiskach tych zaburzenie to wynika z obecności w większości badanych płatów gatunków azotolubnych (Ryc. 1.4 h, l).

Ujemne zależności pomiędzy wskaźnikiem zaburzeń a wskaźnikiem światła L, stwierdzono dla płatów *Valeriano-Filipenduletum* (Tab. 1.2). Wskazuje to na postępującą sukcesję wtórną, potwierdzoną dominacją zaburzonych płatów ze znacznym udziałem drzew i krzewów (Ryc. 1.4 c).



Rycina 1.4. Procentowy udział zaburzonych płatów w zbiorowiskach z rzędu *Molinietalia* z udziałem różnych grup gatunków

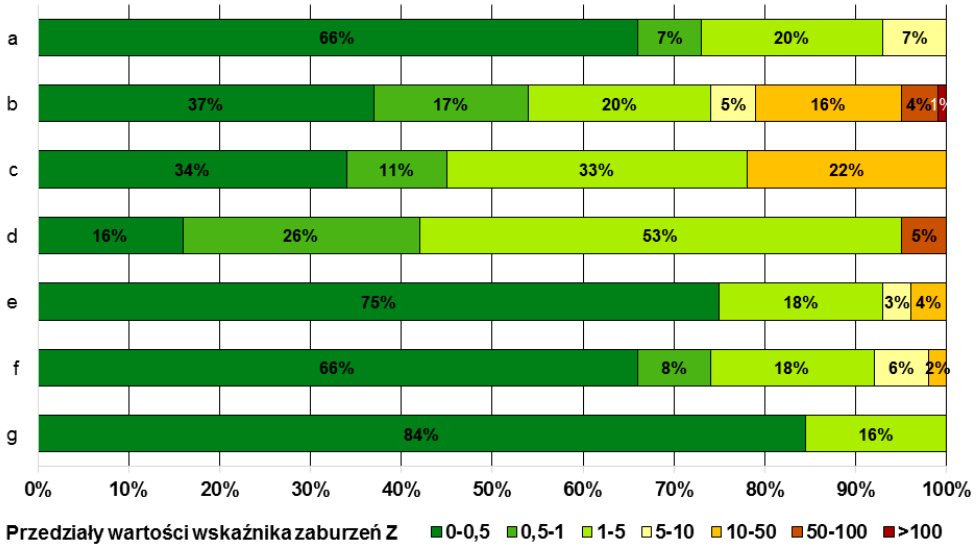
Objaśnienia: 1 – Z (drzewa i krzewy), 2 – Z (neofity), 3 – Z (segetalne), 4 – Z (nitrofi), 5 – Z (ekspansywne gatunki szuwarowe); a – *Filipendulo-Geranietum*, b – *Lysimachio-Filipenduletum*, c – *Valeriano-Filipenduletum*, d – *Scirpetum sylvatici*, e – *Caricetosum cespitosae*, f – *Cirsietum palustris*, g – *Cirsietum rivularis typicum*, h – *Cirsietum rivularis caricetosum fuscae*, i – *Angelico-Cirsietum oleracei*, j – *Epilobio-Juncetum effusi typicum*, k – *Epilobio-Juncetum effusi caricetosum fuscae*, l – *Alopecuretum pratensis typicum*, ł – *Alopecuretum pratensis phalaridetosum arundinaceae*, m – *Deschampsietum cespitosae*

Źródło: badania własne.

Analizy korelacji nie wykazały istotnego związku pomiędzy wartościami wskaźnika Z a wskaźnikami ekologicznymi dla zespołów: *Filipendulo-Geranietum* i *Lysimachio-Filipenduletum* oraz podzespołów: *Epilobio-Juncetum effusi caricetosum fuscae* i *Alopecuretum pratensis phalaridetosum* (Tab. 1.2). Wśród zaburzonych płatów wszystkich wyżej wymienionych zespołów, przeważają płaty ze znacznym udziałem gatunków szuwarowych (Ryc. 1.4 a, b, k).

3.3. Natężenie i główne przyczyny zaburzeń zbiorowisk łąkowych z rzędu *Arrhenatheretalia*

Wyliczone wskaźniki zaburzeń dla roślinności łąkowej z rzędu *Arrhenatheretalia* wykazały, że w największe zmiany w składzie gatunkowym występują w płatach: *A. e. alopecuretosum pratense* i *A. e. luzuletosum campestre*. Ponad 50% powierzchni tych fitocenoz zajmują płaty o zaburzonym składzie gatunkowym, ze wskaźnikiem Z > 1 (Ryc. 1.5 c, d). Niewielki procent powierzchni zaburzonych (poniżej 30%) występuje w obrębie łąk kłosówkowych i wiechlinowo-kostrzewowych (Ryc. 1.5 a, e) oraz fitocenoz pastwiskowych (Ryc. 1.5 h, i).



Rycina 1.5. Procentowy udział płatów roślinności z rzędu *Arrhenatheretalia* o różnym wskaźniku zaburzeń

Objaśnienia: a – *Holcetum lanati*, b – *Arrhenatheretum elatioris typicum*, c – *Arrhenatheretum elatioris alopecuretosum pratense*, d – *Arrhenatheretum elatioris luzuletosum campestre*, e – *Poo-Festucetum rubrae*, f – *Lolio-Cynosuretum typicum*, g – *Lolio-Cynosuretum luzuletosum campestrae*

Źródło: badania własne.

Analizy korelacji przeprowadzone dla typowej łąki rajgrasowej (*A. e. typicum*) wykazały, że istnieje istotna dodatnia korelacja pomiędzy wskaźnikiem zaburzeń tych płatów i wskaźnikiem zasobności podłoża w azot (Tab. 1.3). W przypadku podzespołu *A. e. alopecuretosum pratense* analizy wykazały występowanie wysokiej ujemnej korelacji pomiędzy wskaźnikiem zaburzeń płatów i wilgotnością oraz dodatniej korelacji z zawartością azotu w podłożu (Tab. 1.3).

Owe dwa współwystępujące czynniki prowadzą do zaburzeń w składzie gatunkowym zbiorowiska w postaci płatów z udziałem grupy gatunków azotolubnych (Ryc. 1.6 b, c).

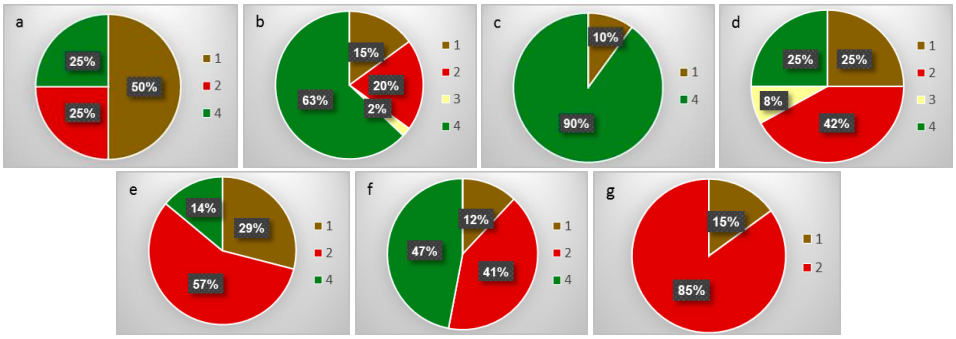
Istotny związek pomiędzy wartością wskaźnika zaburzeń a wskaźnikiem światła L, stwierdzono dla płatów: *A. e. luzuletosum campestrae*, *Poo-Festucetum rubrae* i *Lolio-Cynosuretum luzuletosum campestrae* (Tab. 1.3). Główną przyczyną zaburzeń w składzie gatunkowym w płatach tych zbiorowisk jest ekspansja neofitów, głównie: *Erigeron annuus*, *Erigeron canadensis*, *Lupinus polyphyllus* i *Solidago gigantea*. W płatach tych odnotowano również obecność licznej grupy gatunków segetalnych (Ryc. 1.6 d, e, g).

Tabela 1.3. Współczynniki korelacji r pomiędzy wskaźnikami ekologicznymi i wskaźnikiem zaburzeń Z dla wybranych zbiorowisk z rzędu *Arrhenatheretalia*

	Średnia	Odch. Std.	Światło	Wilgotność	Odczyn gleby	Zawartość azotu
Wskaźnik Z (*Holcetum lanati*)	8,09	5,24	-0,17	0,12	0,09	0,11
Wskaźnik Z (*Arrhenatheretum elatioris typicum*)	11,80	26,12	-0,14	0,20	0,12	0,45**
Wskaźnik Z (*Arrhenatheretum elatioris alopecuretosum)*	4,96	7,47	0,11	-0,76**	0,59	0,62*
Wskaźnik Z (*Arrhenatheretum elatioris luzuletosum)*	8,30	25,53	0,58*	-0,35	0,11	-0,15
Wskaźnik Z (*Poo-Festucetum rubrae)*	2,50	7,63	0,38*	0,28	-0,07	0,05
Wskaźnik Z *(Lolio-Cynosuretum typicum)*	1,66	3,54	0,21	0,15	0,18	0,07
Wskaźnik Z (*Lolio-Cynosuretum luzuletosum)*	0,49	0,45	0,44*	-0,18	0,43	0,26

Uwaga: współczynniki korelacji są istotne z $p < 0,05$*, $p < 0,01$**, $p < 0,001$***

Źródło: badania własne.



Rycina 1.6. Procentowy udział zaburzonych płatów zbiorowisk z rzędu *Arrhenatheretalia* z udziałem różnych grup gatunków

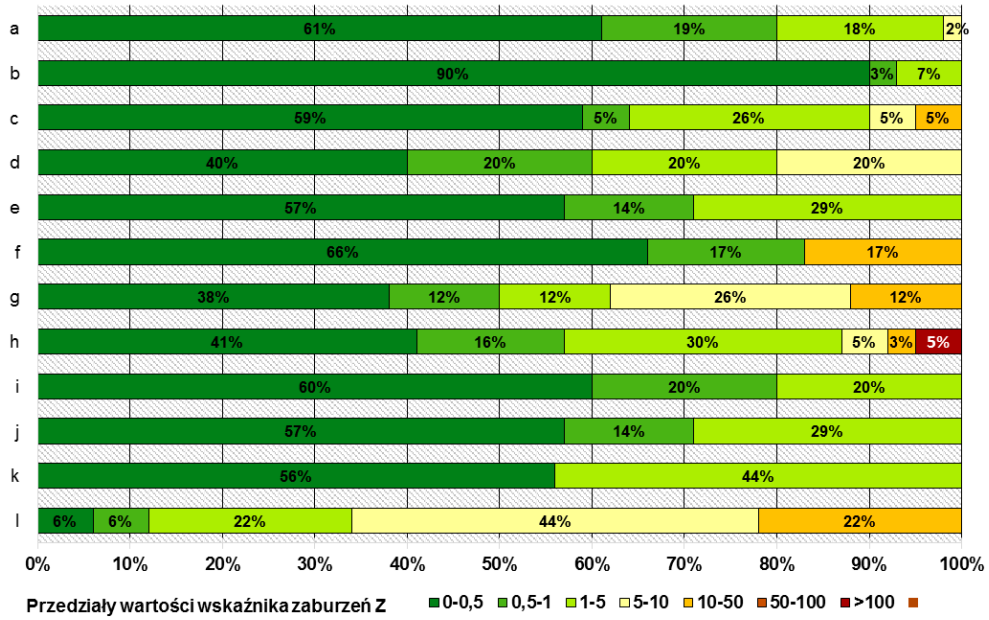
Objaśnienia: 1 – Z (drz i krz), 2 – Z (neof), 3 – Z (seget), 4 – Z (nitrof); a – *Holcetum lanati*, b – *Arrhenatheretum elatioris typicum*, c – *Arrhenatheretum elatioris alopecuretosum pratense*, d – *Arrhenatheretum elatioris luzuletosum campestre*, e – *Poo-Festucetum rubrae*, f – *Lolio-Cynosuretum typicum*, g – *Lolio-Cynosuretum luzuletosum campestrae*

Źródło: badania własne.

W przypadku fitocenoz *Lolio-Cynosuretum typicum*, nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy wartością wskaźnika zaburzeń a wskaźnikami ekologicznymi (Tab. 1.3). Zmiany w składzie gatunkowym w płatach tych zbiorowisk mogą zachodzić pod wpływem wzrostu udziału gatunków nitrofilnych lub (i) neofitów (Ryc. 1.6 f).

3.4. Natężenie i główne przyczyny zaburzeń w zbiorowiskach szuwarowych i torfowiskowych

W Puszczy Boreckiej zbiorowiska szuwarowe są grupą zbiorowisk w najmniejszym stopniu zdegradowanych z powodu obecności obcych gatunków (Ryc. 1.7). Jedynie większy udział płatów zdegradowanych odnotowano w zespole *Calamagrostietum neglectae*, (prawie 90%) oraz *Phalaridetum arundinaceae*, w których odnotowano wskaźnik Z > 1 (Ryc. 1.7 l, g).



Rycina 1.7. Procentowy udział płatów roślinności szuwarowej i torfowiskowej o różnym wskaźniku zaburzeń

Objaśnienia: a – *Caricetum acutiformis*, b – *Caricetum gracilis*, c – *Caricetum vesicariae*, d – *Caricetum vulpinae*, e – *Caricetum repariae*, f – *Iridetum pseudacori*, g – *Phalaridetum arundinaceae*, h – *Phragmitetum australis*, i – *Sparganio-Glycerietum fluitantis* i torfowiskowych: j – *Carici-Agrostietum caninae caricetosum fuscae*, k – *Carici-Agrostietum caninae caricetosum paniculatae*, l – *Calamagrostietum neglectae*

Źródło: badania własne.

Właściwym i typowym składem gatunkowym charakteryzuje się większość płatów młak mietlicowo-turzycowych. Niewielkie zaburzenia, które zaobserwowano, wynikają z ekspansji w niektórych płatach *Carex acutiformis* bądź rozprzestrzeniania drzew i krzewów wskutek braku wykaszania.

We wszystkich zbiorowiskach szuwarowych zaobserwowano zależność pomiędzy spadkiem wilgotności i wzrostem współczynnika Z (Tab. 1.4). Jest ona najsilniejsza w płatach *Caricetum vesicariae*. W przypadku torfowisk niskich, występuje odwrotna zależność (Tab. 1.4), która wskazuje na zachodzący proces wtórnego zabagnienia i wnikanie ekspansywnych gatunków szuwarowych, tj. *Phalaris arundinacea*, Carex *acutiformis* i *Carex gracilis*.

Tabela 1.4. Współczynniki korelacji r pomiędzy wskaźnikami ekologicznymi i wskaźnikiem zaburzeń Z dla wybranych zbiorowisk szuwarowych i torfowiskowych

	Średnia	Odch. Std.	Światło	Wilgotność	Odczyn podłoża	Zawart. azotu
Wskaźnik Z (*Caricetum acutiformis*)	0,88	1,52	-0,18	-0,30*	0,10	0,22
Wskaźnik Z (*Caricetum gracilis*)	0,54	0,87	-0,30	-0,37	-0,10	0,10
Wskaźnik Z (*Caricetum vesicariae*)	1,88	3,30	-0,18	-0,59***	-0,14	-0,11
Wskaźnik Z (*Caricetum ripariae*)	0,92	1,21	-0,22	-0,49**	0,12	0,09
Wskaźnik Z (*Caricetum vulpinae*)	1,15	3,24	-0,17	-0,31*	0,15	-0,19
Wskaźnik Z (*Iridetum pseudacori*)	1,28	1,26	-0,21	-0,30	0,03	0,06
Wskaźnik Z (*Phalaridetum arundinaeceae*)	25,39	100,00	-0,55***	-0,38*	0,19	0,38*
Wskaźnik Z (*Calamagrostietum neglectae*)	7,93	7,25	-0,21	-0,06	0,22	0,14
Wskaźnik Z (*Carici-Agrostietum stoloniferae*)	1,20	1,50	0,20	0,38	-0,23	-0,39

Uwagi: współczynniki korelacji są istotne z $p < 0,05$*, $p < 0,01$**, $p < 0,001$***

Źródło: badania własne.

4. Dyskusja

Główną przyczyną przemian zachodzących w zbiorowiskach łąkowych są zmiany warunków środowiskowych wynikające z prowadzenia szeroko rozumianych zabiegów gospodarczych lub ich zaniechania (Barabasz 1997, Kucharski 2010; Kulik 2014; Kotańska i in 2015; Ziaja, Wójcik 2017). Działania te skutkują przebudową składu gatunkowego roślinności łąkowej lub uruchomieniem spontanicznej sukcesji w kierunku zbiorowisk o charakterze ziołorośli, szuwarów lub inicjalnych postaci zbiorowisk zaroślowych i leśnych.

Proces ten w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat zaznacza się wyraźnie w wielu regionach Polski zajmowanych przez tego typu zbiorowiska roślinne (Barabasz 1997; Kucharski 1999; Kucharski, Pisarek 1999; Michalska-Hejduk 2001; Bator 2005; Sołtys, Barabasz-Krasny 2006; Kącki 2012; Zarzycki, Korzeniak 2013).

Niekorzystne przemiany zbiorowisk łąkowych dotyczą przede wszystkim zmian jakościowych. Objawia się to uproszczeniem składu gatunkowego oraz za-

stępowaniem taksonów charakterystycznych zespołu i związku gatunkami o szerokiej skali ekologicznej.

W wielu przypadkach dochodzi do zdominowania silnie zaburzonych płatów przez jeden lub kilka gatunków ekspansywnych, np. *Urtica dioica*, *Rumex obtusifolius* czy *Cirsium arvense*, *Anthriscus silvestris*, juwenilne drzewa i krzewy, gatunki szuwarowe, gatunki inwazyjne lub taksony traw hodowlanych.

W Puszczy Boreckiej zaprzestanie użytkowania kośnego łąk jest główną przyczyną spadku zajmowanej przez nie powierzchni. Proces ten dotyczy szczególnie łąk wilgotnych, których użytkowanie w obecnych czasach stało się nieopłacalne. Brak konserwacji urządzeń melioracyjnych wywołał wtórne podtopienie, co uniemożliwia użytkowanie kośne lub pastwiskowe obszarów. Sukcesja wtórna na porzuconych obiektach łąkowych występuje na różnych etapach: stadium inicjalnym, zaawansowanym lub terminalnym. W płatach łąk wilgotnych, głównie *Cirsietum rivularis* i torfowisk niskich, gdzie nie nastąpiły zmiany poziomu wody gruntowej, najczęściej ma miejsce głównie ekspansja *Filipendula ulmaria* i *Lysimachia vulgaris* oraz pojawienie się juwenilnych postaci *Salix cinerea*, *Salix pentandra*, *Alnus glutinosa* i *Frangula alnus*. Takie kierunki przekształcania się wilgotnych łąk obserwuje się również w większości regionów Polski (Kucharski 1999; Michalska-Hejduk 2001; Barabasz-Krasny 2002; Krasicka-Korczyńska, Korczyński 2014).

Zaniechanie użytkowania łąk może prowadzić również do opanowania płatów przez *Urtica dioica* (Tomaszewska 2003; Kochanowska, Gamrat 2007; Lorens 2012). Pozostawienie niekoszonej lub niewypasanej fitomasy, skutkuje wzbogaceniem podłoża w azot, co wywołuje takie same efekty jak stosowanie bardzo dużych dawek nawozów azotowych (Barabasz-Krasny 2002). Zjawisko to jest powszechne we wschodniej części Puszczy Boreckiej, gdzie zaprzestanie użytkowania obszarów łąkowych doprowadziło do wykształcenia się licznych pokrzywisk. Proces ten dotknął zarówno fitocenozę z rzędu *Molinietalia*, jak i *Arrhenatheretalia*. Badania przeprowadzone przez Grzegorczyka i Grabowskiego (2010) w Bezledach także dowodzą, że zaprzestanie użytkowania obiektów łąkowych uruchamia ekspansję wysokich gatunków nitrofilnych. W przypadku fitocenoz z rzędu *Molinietalia*, obok braku wykaszania, czynnikiem sprzyjającym ekspansji gatunków azotolubnych jest proces murszenia gleb torfowo-murszowych powstałych na torfowiskach niskich. Proces ten aktywowany jest przez niewłaściwie przeprowadzone zabiegi melioracyjne. Największe natężenie tego zjawisko występuje w płatach zespołu *Angelico-Cirsietum oleracei*, w obrębie którego w niniejszej pracy wyróżniono niekoszoną, przesuszoną postać, w której jednym z dominantów jest *Urtica dioica*. O powiązaniu zaburzeń stosunków wodnych ze wzrostem zasobności podłoża w azot, świadczą wyniki analizy korelacji pomiędzy nimi a wartością wskaźnika

zaburzeń dla zespołów: *Scirpetum sylvatici*, *Angelico-Cirsietum* i *Cirsietum rivularis typicum*.

Na badanym terenie w zbiorowiskach łąkowych, na murszejących torfach rozpowszechnione są płaty z dominacją *Antriscus sylvestris*, natomiast na żyznych glebach mineralnych z *Chaerophyllum aromaticum*, rzadziej *Rumex obtusifolius*.

Na siedliskach uboższych, zajmowanych przez *Arrhenatheretum elatioris luzuletosum* lub *Lolio-Cynosuretum luzuletosum*, nie dochodzi do ekspansji gatunków nitrofilnych, natomiast ma miejsce bezpośrednie wnikanie siewek drzew i krzewów, w szczególności *Betula pendula*, *Carpinus betulus* i *Quercus robur*.

Negatywnym zjawiskiem, które występuje zarówno na łąkach wilgotnych i świeżych w Puszczy Boreckiej, jest przeorywanie ich fragmentów, które następnie przez pewien okres czasu są użytkowane w formie poletek łowieckich. Po kilku latach powierzchnie te są odłogowane, a przeoraniu poddawane są kolejne. Odłogowane powierzchnie, opanowuje *Cirsium arvense* i inne gatunki segetalne. Proces taki opisywany jest także z terenów porzuconych i przesuszonych łąk trzęślicowych, niekoszonych łąk rajgrasowych oraz mozgowych (Blažková 1989; Barabasz 1997). Inwazja *Cirsium arvense* jest wywołana naruszeniem powierzchni gleby w wyniku przeorania i pobudzenia zalegających w glebie kłączy tego gatunku (Mikhailova, Tarasov 1989). Zdaniem niektórych autorów, dominacja *Cirsium arvense* w zaburzonych płatach trwa kilka lat, po czym ustępuje. Sytuację taką odnotowano na Pogórzu Wielickim (Dubiel 1984), gdzie fitocenozy z ostrożeniem polnym stanowiły krótkotrwałe stadium, wykształcające się na łąkach po kilku latach nieużytkowania.

Wiele łąk w Puszczy Boreckiej, na skutek niesprawnie działających urządzeń odwadniających lub wzrastającej w ostatnich latach liczebności rodzin bobrowych i ich aktywności piętrzącej wodę, podlega procesowi wtórnego zabagnienia. Z punktu widzenia przyrodniczego, proces ten jest wysoce korzystny. Prawdopodobnie dzięki współistnieniu tych dwóch czynników, na wielu obiektach łąkowych, odtworzona została mozaika szuwarów łąk wilgotnych i torfowisk niskich. W wyniku znacznego wzrostu poziomu wody, ma miejsce spadek udziału gatunków łąkowych (zwłaszcza łąk świeżych) na rzecz taksonów z klas: *Phragmitetea* i *Scheuchzerio-Caricetea nigrae*. Taką reakcję na wtórne zabagnienie obserwowano również w Puszczy Bolimowskiej (Kucharski 1999; Pisarek, Kucharski 1999), wokół starorzeczy Wisły w Puszczy Niepołomickiej i jej otoczeniu (Dubiel 1973), w Kampinoskim Parku Narodowym (Michalska-Hejduk 2001), niżowej części Dolnego Śląska (Podlaska 2010) oraz rezerwacie „Źródła rzeki Stążki" (Krasicka-Korczyńska, Korczyński 2014). Efektem wtórnego podtopienia w północnej części Puszczy Niepołomickiej było znaczne rozprzestrzenienie się zespołu *Phalaridetum arundinaceae*

(Barabasz 1997). Podobny proces ma miejsce na wielu łąkach Puszczy Boreckiej, gdzie gatunki szuwarowe wypierają gatunki łąkowe. Tendencję tę potwierdza istnienie wielu płatów szuwarów wielkoturzycowych, w których występują również gatunki łąkowe. Zjawisko związane z wtórnym zabagnianiem łąk z obszaru Puszczy Boreckiej obserwował już w latach 60. ubiegłego wieku Polakowski (1961).

Wtórne zabagnienie terenu w niektórych przypadkach może jednak stać się główną przyczyną zaniku zbiorowisk łąk wilgotnych. Zbyt wysoki poziom wód gruntowych na niektórych łąkach, zupełnie uniemożliwia rozwój typowej dla nich roślinności. Silne podtopienie skutkuje całkowitym przekształceniem obszarów w niedostępne bagna, na terenie których niemożliwy jest rozwój roślinności łąkowej, a tym bardziej realizacja zabiegów związanych z ich wykaszaniem. Niekorzystne dla zachowania różnorodności biologicznej analizowanych obiektów byłoby również całkowite zastąpienie fitocenoz łąkowych przez szuwary wielkoturzycowe. Dotyczy ono szczególnie łąk ze związku *Calthion* i torfowisk niskich, które są ostoją licznych gatunków rzadkich i chronionych.

Istotnym zagrożeniem dla zbiorowisk seminaturalnych oraz związanej z nimi różnorodności biologicznej jest inwazja gatunków obcego pochodzenia. W fitocenozach zbiorowisk nieleśnych Puszczy Boreckiej odnotowano następujące taksony uznane za inwazyjne: *Lupinus polyphyllus*, *Erigeron annuus*, *Solidago gigantea* i *Solidago canadensis*. Ich występowanie obserwowano prawie wyłącznie na siedliskach łąk świeżych. Analizy wskaźnika zaburzeń Z dowodzą, że ekspansja tych gatunków jest główną przyczyną zaburzeń składu gatunkowego płatów: *Arrhenatheretum elatiors luzuletosum*, *Poo-Festucetum rubrae* oraz *Lolio-Cynosuretum*, jak również powoduje gwałtowny spadek różnorodności biologicznej (Dajdok, Pawlaczyk 2009, Nowak, Kącki 2009). Na badanym terenie najczęściej notowano płaty zdominowane przez *Lupinus polyphyllus*. Jak dotychczas, wymienione gatunki inwazyjne sporadycznie wnikają do zbiorowisk łąkowych z rzędu *Molinietalia*, i obserwowano je wyłącznie w płatach: *Epilobio-Juncetum typicum* i *Alopecuretum pratensis*. W innych regionach kraju obserwuje się także zarastanie łąk wilgotnych z rzędu *Molinietalia* przez nawłocie (Nowak, Kącki 2009).

5. Wnioski

1. Zastosowany w pracy wskaźnik zaburzeń florystycznych w zbiorowiskach nieleśnych Puszczy Boreckiej jest właściwa miarą stanu zachowania i kierunków przemian tych zbiorowisk.

2. W przypadku większości badanych zbiorowisk, występują istotne korelacje pomiędzy wartościami wskaźnika zaburzeń Z a wartościami wskaźników ekologicznych, w szczególności pomiędzy wskaźnikiem wilgotności F i zasobności podłoża w azot N.
3. Największy udział płatów o zaburzonym składzie florystycznym, stwierdzono w zespołach: *Angelico-Cirsietum oleracei*, *Filipendulo-Geranietum* i *Lysimachio-Filipenduetum*. Najmniejszy udział płatów o zaburzonym składzie gatunkowym odnotowano w zespołach szuwarów wielkoturzycowych.
4. Współcześnie, głównymi źródłami zagrożenia dla zbiorowisk nieleśnych są: całkowite zaprzestanie ich użytkowania, zmiany stosunków wodnych oraz intensyfikacja gospodarki łąkowej.

Literatura

Barabasz B. 1997. Zmiany roślinności łąk w północnej części Puszczy Niepołomickiej w ciągu 20 lat. Studia Naturae 43: 1–99.

Barabasz-Krasny B. 2002. Sukcesja roślinności na łąkach, pastwiskach i nieużytkach porolnych Pogórza Przemyskiego. Fragm. Flor. Geobot. Polonica Suppl. 4: 1–81.

Bator I. 2005. Stan obecny i przemiany zbiorowisk łąkowych okolic Mogilan (Pogórze Wielickie) w okresie 40 lat. Fragm. Flor. Geobot. Suppl. 7: 3–97.

Blažková D. 1989. Meadows, their endangerment and problems in their conservation. Památky a Pøiroda, Praha 14: 100–103.

Bomanowska A., Kiedrzyński M. 2011. Changin land use in recent decades and its impact on plant cover in agricultural and forest landscapes in Poland. Acta Univ. Lodz., Folia Biol. Oecol. 7: 5–26.

Dajdok Z., Pawlaczyk P. (red.) 2009. Inwazyjne gatunki roślin ekosystemów mokradłowych Polski. Wyd. Klubu Przyrodników, Świebodzin. 1–167.

Dubiel E. 1973. Zespoły roślinne starorzeczy Wisły w Puszczy Niepołomickiej. Studia Naturae. Ser. A, 7: 67–124.

Dubiel E. 1984. Dolina Wierzbanówki: 5. Rozwój roślinności na odłogach. Zesz. Nauk. UJ, Prace Bot. 12: 97–112.

Dzwonko Z. 2008. Przewodnik do badań fitosocjologicznych. [W:] Faliński J. B. (red.), Vademecum Geobotanicum. Wyd. Sorus, Poznań–Kraków: 1–304.

Grzegorczyk S., Grabowski K. 2010. Wpływ zaniechania rolniczego użytkowania zbiorowisk trawiastych obiektu Bezledy na zmiany w ich składzie gatunkowym. Łąkarstwo w Polsce (Grassland Science in Poland) 13: 57–63.

Guziak R., Lubaczewska S. (red.) 2001. Ochrona przyrody w praktyce. Podmokłe łąki i pastwiska. Polskie Towarzystwo Przyjaciół Przyrody „pro Natura", Wrocław, 149.

Kącki Z. 2007. Comprehensive syntaxonomy of *Molinion* meadows in southwestern Poland. Acta Bot. Siles. Monogr., 2: 1–134.

Kącki Z. 2009. Ochrona zagrożonych siedlisk przyrodniczych w programie rolnośrodowiskowym. Biblioteczka programu rolnośrodowiskowego 2010–2013, Warszawa: 4–36.

Kącki Z. 2012. Variability and long-term changes in the species composition of *Molinion* meadows in Poland: a case study using a large data set from the Polish Vegetation Database. Acta Bot. Siles. Monogr., 7: 1–144.

Kochanowska R., Gamrat R., 2007. Zbiorowiska trawiaste z pełnikiem europejskim (*Trollius europaeus* L.) w dolinie rzeki Chocieli. Łąkarstwo w Polsce 10: 119–129.

Kotańska M., Towpasz K., Wójcik T., Mitka J. 2015. Łąki w krajobrazie rolniczym Płaskowyżu Proszowickiego (Wyżyna Małopolska). Ekologia i Technika 23 (4): 182–192.

Krasicka-Korczyńska E., Korczyński M. 2014. Dynamika roślinności łąkowej w rezerwacie „Źródła rzeki Stążki". Łąki w Krajobrazie. Polskie Towarzystwo Botaniczne, Oddział w Bydgoszczy: 81–91.

Kucharski L. 1999. Szata roślinna łąk Polski Środkowej i jej zmiany w XX stuleciu. Wyd. Uniw. Łódzkiego, Łódź: 5–165.

Kucharski L., Michalska-Hejduk D. 1994. Przegląd zbiorowisk łąkowych z klasy *Molinio-Arrhnenatheretea* stwierdzonych w Polsce. Wiad. Bot. 1–2: 95–104.

Kucharski L., Pisarek W. 1999. Roślinność łąk Bolimowskiego Parku Krajobrazowego. Monogr. Bot. Łódź 85: 139–176.

Kucharski L. 2010. Szata roślinna terenu górniczego złoża Koźmin – jej zmiany i możliwości ochrony. Prace i Studia Geograficzne 44: 168–192.

Kulik M. 2014. Changes of biodiversity and species compositions of Molinia meadows depending on use method. Pol. J. Environ. Stud. 23 (3): 773–782.

Lorens B. 2012. Przemiany roślinności Doliny Wieprza w Roztoczańskim Parku Narodowym. Inżynieria Ekologiczna 29: 76–86.

Matuszkiewicz W. 2011. Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski. Wydaw. Nauk. PWN, Warszawa: 1–540.

Michalska-Hejduk D. 2001. Stan obecny i kierunki zmian roślinności nieleśnej Kampinoskiego Parku Narodowego. Monogr. Bot. 89: 3–134.

Michalska-Hejduk D. 2004. Najcenniejsze przyrodniczo obszary łąk i turzycowisk zachodniej części Kampinoskiego Parku Narodowego oraz propozycje ich ochrony. Parki Narodowe i Rezerwaty Przyrody. 23: 203–218.

Mikhailova N. F., Tarasov A. V. 1989. On the character of *Cirsium arvense* (Asteraceae) thickets. Bot. J. 74(4): 509–514.

Niedrist G., Tasser E., Lüth C., Dalla Via J., Tappeiner U. 2009. Plant diversity declines with recent land use changes in European Alps. Plant Ecol. 202: 195–210.

Nowak A., Kącki Z. 2009. Gatunki z rodzaju nawłoć *Solidago* spp. [W:] Dajdok Z., Pawlaczyk P. (red.), Inwazyjne gatunki roślin ekosystemów mokradłowych Polski. Wyd. Klubu Przyrodników, Świebodzin: 80–86.

Orłowski G., Górka W. 2010. Lęgowe ugrupowania awifauny trzcinowisk i cenne gatunki siedlisk łąkowych pól irygacyjnych we Wrocławiu. Ornis Polonica 51: 77–92.

Pawłowski B. 1972. Systematyka polskich zbiorowisk roślinnych. [W:] Szafer W., Zarzycki K. (red.), Szata roślinna Polski. T. 1. PWN, Warszawa: 269–279.

Piernik A. 2008. Metody numeryczne w ekologii na przykładzie zastosowań pakietu MVSP do analiz roślinności. Wyd. Nauk. Uniw. M. Kopernika, Toruń.

Pisarek W., Kucharski L. 1999. Roślinność szuwarowa i torfowiskowa Bolimowskiego Parku Krajobrazowego. Monogr. Bot. Łódź 85: 99–137.

Podlaska M. 2010. Zróżnicowanie wartości użytkowej runi nieużytkowanych łąk pobagiennych niżowej części Dolnego Śląska. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie 10 (4): 149–163.

Polakowski B. 1961. Stosunki florystyczno-fitosocjologiczne Puszczy Boreckiej ze szczególnym uwzględnieniem lasów leśnictwa Lipowo i Walisko. Stud. Societ. Scient. Toruniensis. Sect. D (Botanica) 5: 1–146.

Reidsma P., Tekelenburg T., van den Berg M., Alkemade R. 2006. Impact of land-use change on biodiversity: An assessment of agricultural biodiversity in the European Union. Agric. Ecosyst. Environ. 114: 86–102.

Sołtys A., Barabasz-Krasny B. 2006. Przemiany roślinności kserotermicznej na powierzchni badawczej „Grodzisko" w Ojcowskim Parku Narodowym. Prądnik. Prace i Materiały Muzeum im. Prof. Wł. Szafera 16.

Spychalski W., Kryszak J., Kryszak A. 2011. Gleby łąk dolinowych i śródpolnych a ich różnorodność florystyczna. Roczniki Gleboznawcze 62 (2): 376–386.

Swędrzyński A. 2014. Geneza zbiorowisk łąkowych Europy Środkowej w świetle zróżnicowanych teorii i koncepcji naukowych. Łąkarstwo w Polsce 17: 117–126.

Tokarska-Guzik B., Dajdok Z., Zając M., Zając A., Urbisz A., Danielewicz W., Hołdyński Cz. 2012. Rośliny obcego pochodzenia w Polsce ze szczególnym uwzględnieniem gatunków inwazyjnych. Generalna Dyrekcja Ochrony Środowiska, Warszawa, ss. 197.

Tomaszewska K. 2003. Zmiany w składzie gatunkowym fitocenoz na porzuconych łąkach pobagiennych. Annales Silesia 32: 103–116.

Tryjanowski P., Hartel T., Báldi A., Szymański P., Tobolka M., Herzon I., Goławski A., Konvička M., Hromada M., Jerzak L., Kujawa K., Lenda M., Orłowski G., Panek M., Skórka P., Sparks T. H., Tworek S., Wuczyński A. Śmihorski M. 2011. Conservation of farmland birds faces different challenges in Western and Central-Eastern Europe. – Acta Ornithol. 46(1): 1–12.

Wasilewski Z. 2009. Stan obecny i kierunki gospodarowania na użytkach zielonych zgodnie z wymogami wspólnej gospodarki rolnej. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie t. 9, z. 2 (26): 169–184.

Westhoff V., Maarel E. Van. Der. 1973. The Braun-Blanquet Approach. [W:] Whittaker R. W. (red.), Ordination and Classification of Vegetation. Handb. Veget. Sci. 5: 617–726.

Załuski T. 1995. Łąki selernicowe (związek *Cnidion dubii* Bal.-Tul. 1966) w Polsce. Monogr. Bot. 77: 1–142.

Zarzycki J., Korzeniak J. 2013. Łąki w Polskich Karpatach – stan aktualny, zmiany i możliwości ich zachowania. Roczniki Bieszczadzkie. 21: 18–34.

Ziaja M., Wójcik T. 2017. Floristic diversity of the "Łąki w Komborni" Natura 2000 Site PLH180042 (Western Carpathians). Steciana 21 (2): 49–57.

2 Zróżnicowanie leśnych monokultur świerkowych Pomorza Zachodniego

Aleksander **Smoliga**

Regionalna Dyrekcja Lasów Państwowych w Szczecinie

ul. J. Słowackiego 2, 71–434 Szczecin
e-mail: aleksander.smoliga@szczecin.lasy.gov.pl

Streszczenie: W pracy przedstawiono charakterystykę leśnych monokultur świerkowych Polski północno-zachodniej pod względem struktury i zróżnicowania florystyczno-fitosocjologicznego. Prace badawcze prowadzono w latach 2012–2015. Najważniejszym źródłem informacji o zbiorowiskach roślinnych są zdjęcia fitosocjologiczne, które wykonano na podstawie metody środkowoeuropejskiej szkoły fitosocjologicznej. Pośród zebranych danych, do analiz wytypowano 222 zdjęcia. W celu wyróżnienia głównych jednostek syntaksonomicznych, posłużono się metodami klasyfikacji numerycznej, z wykorzystaniem programu TWINSPAN. Klasyfikacja zdjęć fitosocjologicznych pozwoliła na wydzielenie w grupie świerczyn antropogenicznych 4 zbiorowisk roślinnych.

Wyróżnione jednostki są zróżnicowane pod względem składu gatunkowego, jednak określony zestaw gatunków występuje prawie w każdym zdjęciu fitosocjologicznym. W grupie antropogenicznych lasów świerkowych Pomorza Zachodniego, wyróżniono następujące syntaksony: zbiorowisko *Picea abies-Oxalis acetosella*, które wykształciło się głównie na siedliskach lasów bukowych i grądowych. Zbiorowisko *Sambucus nigra-Picea abies* cechujące się silnie przerzedzonym drzewostanem świerkowym, pod którego okapem rozwija się warstwa krzewów zdominowana przez *Sambucus nigra* L., a w warstwie runa notowano gatunki nitrofilne. Wyróżniono także grupę wilgotnych lasów świerkowych, które związane są z siedliskami hydrogenicznymi oraz zbiorowisko porębowe z *Picea abies* H. Karst, które występowało w silnie przerzedzonych i pozbawionych okrajka drzewostanach. W warstwie podszytu dominowały gatunki z rodzaju *Rubus* L., natomiast warstwę zielną tworzyły taksony charakterystyczne dla zbiorowisk porębowych.

Słowa kluczowe: świerk pospolity, Pomorze Zachodnie, zbiorowiska antropogeniczne, gospodarka leśna.

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 33-49

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

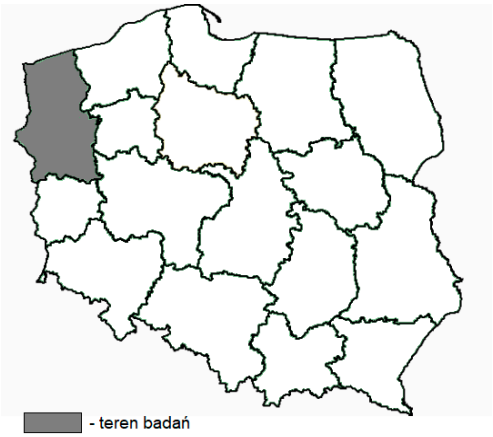
1. Wstęp

Jednym z najbardziej widocznych skutków działalności człowieka jest wprowadzanie obcych gatunków drzew do zbiorowisk leśnych (Tokarska-Guzik i in. 2012). Przykładem gatunku, którego zasięg i uprawa w Polsce budzą dużo kontrowersji, jest świerk pospolity *Picea abies*. Leśne zbiorowiska zastępcze z dominacją tego gatunku często nie posiadają swojej charakterystyki fitosocjologicznej. Wykonane dotychczas na Pomorzu Zachodnim prace geobotaniczne obejmowały głównie obszary chronione oraz cenne pod względem przyrodniczym kompleksy leśne, w tym obszary Natura 2000. Antropogeniczne świerczyny, zwłaszcza w starszych klasach wieku, są ważnym refugium cennej fauny i flory oraz stanowią rezerwuar martwego drewna, szczególnie w drzewostanach wyłączonych z użytkowania. Wyniki badań leśnych monokultur świerkowych Pomorza Zachodniego stanowią ważne źródło informacji o zbiorowiskach zastępczych tej części kraju, oraz mogą stanowić cenne wskazówki dla gospodarki leśnej prowadzonej w zbiorowiskach z dominacją świerka, poza przyjmowanym dotychczas zasięgiem jego występowania.

2. Teren badań

Teren badań obejmował lasy Regionalnej Dyrekcji Lasów Państwowych w Szczecinie (Ryc. 2.1). Zgodnie z regionalizacją Kondrackiego (2009), część terenu badań w północno-zachodniej Polsce, obejmuje następujące mezoregiony: Równina Wkrzańska, Równina Goleniowska, Wzniesienia Szczecińskie, Równina Wełtyńska, Równina Pyrzycko-Stargardzka, Równina Nowogardzka, Równina Gryficka, Pojezierze Myśliborskie, Pojezierze Choszczeńskie, Wysoczyzna Łobeska, Pojezierze Drawskie, Równina Gorzowska, Pojezierze Dobiegniewskie i Równina Drawska.

W pracy przyjęto regionalizację botaniczną Matuszkiewicza (2008), zgodnie z którą szata roślinna obszaru badań, jako część krajobrazów roślinnych Polski, zaliczana jest do działu Pomorskiego. W jego obrębie teren badań pokrywa się z następującymi krainami: Pobrzeży Południowobałtyckich, Szczecińską, Pojezierzy Środkowopomorskich, Sandrowych Przedpoli Pojezierzy Środkowopomorskich. Dział Pomorski cechuje znaczący udział zbiorowisk o subatlantyckim typie zasięgu.



Rycina 2.1. Lokalizacja terenu badań w zachodniej części województwa zachodniopomorskiego i północno-zachodniej województwa lubuskiego, kraina przyrodniczo-leśna – Bałtycka

Klimat Polski północno-zachodniej wyróżnia duża różnorodność. Północna i zachodnia część omawianego obszaru ma typowe cechy klimatu morskiego. W kierunku wschodnim zaznaczają się stopniowo wpływy klimatu kontynentalnego (Borówka 2005; Koźmiński 2001).

Współczesny krajobraz terenu badań został ukształtowany w czwartorzędzie, przez wkraczające czterokrotnie lodowce. W miejscach, gdzie postój lądolodu odbywał się przez dłuższy czas, wytworzyły się rozległe wzgórza moren czołowych. Gleby północno-zachodniej Polski są młode, zaczęły się one tworzyć dopiero w okresie postglacjalnym. Dominują tu gleby brunatne, płowe i bielicowe (Kondracki 2000; Borówka 2005). Teren badań w północno-zachodniej Polsce położony jest w dorzeczu Odry (Atlas podziału hydrograficznego Polski 2005).

3. Materiały i metody

Źródłem informacji na temat rozmieszczenia świerczyn antropogenicznych były informacje zawarte w opisach taksacyjnych nadleśnictw, na mapach przeglądowych drzewostanów oraz w ogólnodostępnych systemach informacji przestrzennej. Wybór powierzchni, na których prowadzono badania poprzedził, wykonany w II kwartale 2012 roku i uzupełniony w 2014 roku rekonesans terenowy. Powierzchnie badawcze obejmowały płaty, w których udział świerka w drzewostanie wynosił co najmniej 50%, a jego wiek był równy bądź przekraczał 60 lat.

Informacji na temat składu gatunkowego i struktury zbiorowisk roślinnych dostarczyły zdjęcia fitosocjologiczne. Wybrane płaty badano w sezonie wegetacyjnym (maj-wrzesień), w latach 2012–2015. Łącznie wykonano 222 zdjęcia fitosocjologiczne. Badania fitosocjologiczne prowadzono zgodnie z metodami środkowoeuropejskiej szkoły fitosocjologicznej (Mueller-Dombois, Ellenberg 2003). Położenie miejsc, w których wykonywano zdjęcia fitosocjologiczne ustalono przy użyciu odbiornika GPS (TRIMBLE 3G). Zdjęcia fitosocjologiczne opracowywano w programie Turboveg 2.0. (Hennekens, Schaminée 2001).

Klasyfikację zdjęć fitosocjologicznych, przeprowadzono na podstawie obecności gatunków wyróżniających. Wykorzystano w tym celu program TWINSPAN, który działa w ramach aplikacji Juice (Tichý 2002). Dzięki wykorzystaniu analizy dzielącej powstał dendrogram, który ilustruje podział zbioru danych fitosocjologicznych na grupy, identyfikowane ze zbiorowiskami roślinnymi. Dostępny zbiór danych podzielono na grupy, które są zróżnicowane pod względem składu gatunkowego. Kolejno zweryfikowano przynależność zdjęć fitosocjologicznych do wyróżnionych jednostek. W tym celu posłużono się dostępnym, w ramach aplikacji Juice, narzędziem Associa, które umożliwia przypisanie zdjęć do poszczególnych grup (van Tongeren i in. 2008). Jednostki wyróżnione na podstawie analizy połączono w zbiorowiska.

4. Wyniki

W wyniku analizy zdjęć fitosocjologicznych, wyróżniono 4 zbiorowiska świerczyn antropogenicznych Pomorza Zachodniego, które różnią się składem gatunkowym, budową i uwarunkowaniami siedliskowymi (Tab. 2.1).

Lasy wilgotne z *Picea abies* – zbiorowisko wyróżniono na podstawie analizy 23 zdjęć fitosocjologicznych. Z uwagi na wewnętrzne zróżnicowanie fitocenozy lasu wilgotnego z *Picea abies*, opisano również dwa warianty, które różnią się udziałem gatunków borowych i lasowych. W pierwszym wariancie dominują taksony borowe, natomiast w drugim – gatunki roślin związane z żyznymi lasami liściastymi.

W zbiorowisku pojawiają się głównie gatunki z klas: *Vaccinio-Piceetea* Br.-Bl. 1939, *Molinio-Arrhenatheretea* R.Tx. 1937 i *Querco-Fagetea* Br.-Bl. et Vlieg. 1937. Gatunki osiągające najwyższą stałość w analizowanej grupie zdjęć, to: *Oxalis acetosella* L., *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, *Molinia caerulea* (L.) Moench i *Vaccinium myrtillus* L. Towarzyszą im gatunki przechodzące z borów sosnowych i lasów mieszanych, takie jak: *Trientalis europaea* L., *Luzula pilosa* (L.) Willd., *Maianthemum*

bifolium (L.) F.W. Schmidt i *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin. W opisywanym wariancie, pośród roślin zielnych, pojawiają się gatunki z klasy *Molinio-Arrhenatheretea*. W wariancie z dominacją gatunków lasowych występują taksony takie jak: *Mercurialis perennis* L., *Brachypodium sylvaticum* (Huds.) P. Beauv., *Galium sylvaticum* L., *Anemone ranunculoides* L. Warstwa runa pokrywała w badanych płatach od 25% do 95% powierzchni. Pośród roślin zielnych niemal zawsze występował *Impatiens parviflora* DC.

W warstwie drzew, obok świerka występuje głównie: *Betula pendula* Roth i *Pinus sylvestris* L. W trzech zdjęciach fitosocjologicznych odnotowano *Alnus glutinosa* Gaertn., pomimo sprzyjających warunków siedliskowych, w analizowanych płatach nie stwierdzono występowania *Fraxinus excelsior* L. Występująca w drzewostanie brzoza często ustępuje z drzewostanu w wieku 60–80 lat.

Podszyt w badanych płatach tworzy odnowienie naturalne świerka, które na siedliskach wilgotnych osiąga dobrą zdrowotność i duże pokrycie, zwłaszcza w obniżeniach terenu i na skraju zastoisk z wodą. W wariancie z dominującym udziałem gatunków lasowych, w podszycie występuje: *Corylus avellana* L., *Carpinus betulus* L. i *Acer platanoides* L. Krzewy pokrywają przeciętnie około 30% powierzchni badanych płatów. Najsłabiej wykształcona warstwa krzewów osiąga kilka procent, a najlepiej rozwinięta – około 70%. Podszyt jest rozmieszczony nierównomiernie, największe zwarcie osiąga w miejscach, w których drzewostan jest przerzedzony lub w obniżeniach terenu. Odnowienie świerka tworzy biogrupy. Warstwa mszysta jest na ogół słabo rozwinięta i zdominowana przez 1–2 gatunki. Więcej taksonów występowało w wariancie z dominacją gatunków lasowych, również struktura pionowa tych zbiorowisk jest bardziej złożona.

Płaty zbiorowiska występują głównie na siedliskach borów mieszanych wilgotnych, lasów wilgotnych i lasów mieszanych wilgotnych. Zarówno w pierwszym, jak i drugim wariancie mamy do czynienia ze zbiorowiskami zastępczymi, które powstały w wyniku wprowadzenia świerka na siedliska lasów grądowych, łęgowych i borów wilgotnych. Niektóre z badanych płatów występowały w miejscach, jakie niegdyś zajmowały wilgotne łąki, które intensywnie meliorowano i zalesiano. Badane płaty są zlokalizowane głównie na obszarach równinnych, w wielu miejscach zaznaczają się jednak drobne deniwelacje terenu. Niektóre spośród badanych płatów występują na skłonach, które wyróżnią się podsiąkiem wód gruntowych.

Tabela 2.1. Charakterystyka leśnych monokultur świerkowych Pomorza Zachodniego

Gatunek	Warstwa	Zbiorowisko *Picea-abies Sambucus nigra*		Wilgotne świerczyny		Zbiorowisko porębowe z *Picea abies*		Zbiorowisko *Picea abies - Oxalis acetosella*	
Picea abies	a1	V	3242	V	5014	V	3250	V	5474
Picea abies	a2	I	0,3	III	987,2	IV	778,9	III	804,1
Picea abies	a3	I	0,7	III	460	II	361,1	II	149,6
Picea abies	b1	I	0,7	II	194,4	II	1,1	II	161
Picea abies	b2			III	279,4	II	1,1	II	108,7
Picea abies	c	I	0,7	III	2,8			I	0,8
Picea abies	*juv*	III	3,7	III	3,3	III	3,3	III	14,2
Oxalis acetosella	c	IV	736,7	IV	296,1	IV	778,9	V	1207
Impatiens parviflora	c	V	721,3	III	3,3	IV	200	IV	614,5
Mycelis muralis	c	IV	6,3	II	2,2	III	33,3	IV	48,2
Milium effusum	c	IV	64,7	II	98,9	IV	5,6	IV	57,9
Rubus idaeus	b1	I	166,7			II	194,4	I	0,4
Rubus idaeus	b2	I	0,3	I	194,4	V	1723	I	11,3
Rubus idaeus	c	III	3,7	II	2,8	II	2,2	III	117,5
Dryopteris dilatata	c	III	3	III	3,3	II	195,6	III	99,2
Gymnocarpium dryopteris	c	III	2,7	III	3,9	III	4,4	III	33,9
Deschampsia flexuosa	c	I	0,7	IV	655	III	557,8	III	349,5
Urtica dioica	c	V	1206	II	98,3	IV	6,7	III	61,4
Pinus sylvestris	a1	II	2,3	IV	391,7	III	196,7	III	254,8
Pinus sylvestris	a2	I	0,7	I	0,6	II	2,2	I	64
Pinus sylvestris	c							I	0,1
Pinus sylvestris	*juv*			III	5	II	2,2	I	0,7
Pteridium aquilinum	c	I	0,3	IV	849,4	IV	55,6	III	221,9
Galeopsis tetrahit	c	III	61	I	0,6	III	3,3	III	3,1
Rubus caesius	b2	II	175			II	361,1	I	51,7
Rubus caesius	c	III	177	III	99,4	III	196,7	III	43,5
Dryopteris filix-mas	c	II	0,7	I	97,8	III	197,8	III	97,9
Gatunki lasów bukowych i grądowych									
Fagus sylvatica	a1	I	58,3	II	1,1	II	1,1	II	85,5
Fagus sylvatica	a2	I	58,7	I	97,2			II	158,1

Gatunek	Warstwa	Zbiorowisko *Picea-abies Sambucus nigra*		Wilgotne świerczyny		Zbiorowisko porębowe z *Picea abies*		Zbiorowisko *Picea abies - Oxalis aceto-sella*	
Euonymus europaea	b1	I	0,3						
Euonymus europaea	c								
Tilia cordata	a1	I	58,3						
Tilia cordata	a2	I	58,3						
Tilia cordata	b1	I	0,3						
Tilia cordata	b2	I	0,3						
Tilia cordata	c	I	0,3			II	1,1		
Acer platanoides	a2	I	58,3					I	21,2
Acer platanoides	a3					II	388,9	I	97
Acer platanoides	b1	II	1,7			II	1,1	I	50,1
Acer platanoides	b2			I	0,6	II	1,1	I	10,7
Acer platanoides	c	II	1,3					I	0,1
Acer platanoides	*juv*	I	0,3					I	0,5
Brachypodium sylvaticum	c	IV	179,7					II	64,8
Melica nutans	c	II	59,7					II	100,9
Stellaria nemorum	c	II	1,3			III	4,4	III	2,7
Poa nemoralis	c	II	1,3			II	1,1	II	1,3
Luzula pilosa	c		0	II	100,6	II	1,1	III	34,1
Stachys sylvatica	c	IV	578,3	I	97,2	II	194,4	II	63,3
Galium sylvaticum	c	III	459			II	194,4	II	153,6
Carex sylvatica	c	II	2			II	2,2	I	0,7
Carex pilulifera	c					II	2,2	II	1,1
Galium odoratum	c	II	2,3					II	82,5
Adoxa moschatellina	c	II	1,7					I	0,2
Anemone ranunculoides	c	II	59						
Ficaria verna	c	I	0,7						
Galeobdolon luteum	c	II	2,3					I	41,2
Impatiens noli-tangere	c	II	1					I	20
Mercurialis perennis	c	II	59,7					I	21,2
Phyteuma spicatum	c	I	0,3						

Gatunek	Warstwa	Zbiorowisko *Picea-abies Sambucus nigra*		Wilgotne świerczyny		Zbiorowisko porębowe z *Picea abies*		Zbiorowisko *Picea abies-Oxalis acetosella*	
Fagus sylvatica	a3	II	59,3	I	180,6	III	724,4	III	357,3
Fagus sylvatica	b1	II	1,7			III	390	III	226,2
Fagus sylvatica	b2	II	1	III	4,4	II	195,6	III	189,4
Fagus sylvatica	c	I	0,3	III	3,3	II	1,1	I	0,7
Fagus sylvatica	*juv*	II	1,7					II	1,6
Acer pseudoplatanus	a1							I	10,6
Acer pseudoplatanus	a2	II	400					I	10,7
Acer pseudoplatanus	a3	III	400,7			II	194,4	I	197,3
Acer pseudoplatanus	b1	II	117,7			II	195,6	II	165,8
Acer pseudoplatanus	b2	II	1	I	0,6			I	32,1
Acer pseudoplatanus	c	I	0,7	I	0,6			I	0,3
Acer pseudoplatanus	*juv*	II	1,7	II	1,7			II	1,1
Corylus avellana	a2	I	108,3						
Corylus avellana	a3	I	58,7					II	143
Corylus avellana	b1	III	285,3					II	130,8
Corylus avellana	b2					II	194,4	I	30,7
Corylus avellana	c	I	0,7	I	0,6	II	2,2	I	0,2
Corylus avellana	*juv*							I	0,2
Quercus robur	a1	II	59	I	0,6			I	64,2
Quercus robur	a2	I	58,7	II	98,9			I	53,4
Quercus robur	a3	II	1	I	0,6	II	195,6	I	21,8
Quercus robur	b1	I	0,3			II	1,1	I	0,1
Quercus robur	b2	I	0,3	II	1,7	II	1,1	I	0,4
Pozostałe									
Prunus avium	a2							I	0,1
Prunus avium	a3	I	0,7					I	0,2
Prunus avium	b1	I	0,1					I	10,7
Prunus avium	b2	I	58,3						
Prunus avium	c	I	0,7			II	2,2	I	0,1
Carpinus betulus	a2	I	0,3				0	I	30,4
Carpinus betulus	a3	I	0,3			II	1,1	I	41,2
Carpinus betulus	b1	I	0,3				0	I	32,2
Carpinus betulus	b2	I	58,3				0	I	0,5

Gatunek	Warstwa	Zbiorowisko *Picea-abies Sambucus nigra*		Wilgotne świerczyny		Zbiorowisko porębowe z *Picea abies*		Zbiorowisko *Picea abies-Oxalis acetosella*	
Polygonatum multiflorum	c	II	1,3	I	0,6			I	0,1
Pulmonaria officinalis	c	I	0,3						
Anemone nemorosa	c	II	1					I	11,2
Ranunculus auricomus	c	I	0,3					I	0,1
Aegopodium podagraria	c	II	118,3						
Carex digitata	c			II	1,1	II	1,1	I	0,9
Sanicula europaea	c	II	1	I	97,2			I	0,1
Scrophularia nodosa	c	I	0,3					I	0,4
Viola reichenbachiana	c	II	2					I	0,5
Festuca altissima	c	II	1					I	0,3
Gatunki borów sosnowych									
Sorbus aucuparia	a2			II	97,8				
Sorbus aucuparia	a3	I	0,7	I	0,6	II	1,1	I	21,8
Sorbus aucuparia	b1	II	1,7			III	3,3	II	32,7
Sorbus aucuparia	b2	II	1,3	III	3,3	II	2,2	II	54,5
Sorbus aucuparia	c	II	1	IV	101,7	III	3,3	II	2,2
Vaccinium vitis-idaea	c			III	197,2	II	361,1	I	11
Vaccinium myrtillus	c			V	1060	II	2,2	II	199,2
Maianthemum bifolium	c	II	1	III	293,9	II	1,1	II	134,6
Trientalis europaea	c			III	100			I	43
Melampyrum pratense	c			II	98,3	II	1,1	II	11,3
Dicranum scoparium	d							I	32,1
Pleurozium schreberi	d			III	197,8	II	194,4	II	180,7
Frangula alnus	b1			I	0,6			I	11
Frangula alnus	b2	II	1,3	II	98,9	II	1,1	II	32,7
Frangula alnus	c	II	1	IV	199,4	II	2,2	II	1,7
Frangula alnus	*juv*	I	0,7	II	195			I	0,7
Alnus glutinosa	a1	II	117,3	II	97,8				
Alnus glutinosa	a2	II	59						
Alnus glutinosa	a3	I	0,3	II	277,8				
Alnus glutinosa	b1	I	116,7						
Alnus glutinosa	b2			II	194,4				
Alnus glutinosa	c	I	0,3						

Gatunek	Warstwa	Zbiorowisko *Picea-abies Sambucus nigra*		Wilgotne świerczyny		Zbiorowisko porębowe z *Picea abies*		Zbiorowisko *Picea abies-Oxalis acetosella*	
Carpinus betulus	c						0	I	0,1
Carpinus betulus	*juv*	I	0,3			II	1,1	I	0,2
Prunus serotina	a3	II	117					I	30,3
Prunus serotina	b2	I	0,7	II	98,3	II	194,4	II	22,1
Prunus serotina	b1	II	116,7					I	32
Prunus serotina	c	I	0,7	II	0,6			I	0,5
Sambucus nigra	a3	IV	1151			II	1,1	I	10,7
Sambucus nigra	b1	IV	1093	II	97,2	II	1,1	I	62,5
Sambucus nigra	b2	III	292,3	I	97,8	II	1,1	I	22,1
Sambucus nigra	c			II	0	II	0		
Betula pendula	a1	II	1,3	II	1,7	II	2,2	I	21,9
Betula pendula	a2	I	0,3	II	1,1			I	11,2
Betula pendula	a3			I	0,6			I	21,5
Betula pendula	b1					II	1,1	I	0,3
Betula pendula	b2			II	1,7			I	0,5
Betula pendula	c			III	3,3	II	2,2	I	0,4
Betula pendula	*juv*			I	0,6			I	0,4
Quercus species	c	I	0,3	I	0,6				
Quercus species	*juv*	II	2,3	III	2,8	II	2,2	III	2,6
Populus tremula	a3								
Populus tremula	b1								
Populus tremula	b2					II	1,1	I	0,2
Populus tremula	c			I	0,6			I	0,2
Populus tremula	*juv*	I	0,7			II	1,1	I	0,4
Pseudotsuga menziesii	a1	I	58,7			II	194,4	I	63,8
Pseudotsuga menziesii	a2								
Pseudotsuga menziesii	a3							I	10,7
Pseudotsuga menziesii	b1							I	19,8
Pseudotsuga menziesii	*juv*					II	1,1	I	0,5
Quercus petraea	a1							I	10,8
Quercus petraea	a2							I	10,7
Quercus petraea	a3	I	0,3	I	0,6				
Quercus petraea	b1							I	0,1

Gatunek	Warstwa	Zbiorowisko *Picea-abies Sambucus nigra*		Wilgotne świerczyny		Zbiorowisko porębowe z *Picea abies*		Zbiorowisko *Picea abies-Oxalis acetosella*	
Alnus glutinosa	*juv*							I	0,1
Prunus serotina	a2	I	58,3						
Deschampsia caespitosa	c	III	62	II	98,3			II	11,6
Geum urbanum	c	V	8			II	1,1	I	0,2
Fallopia dumetorum	c	II	1,7	I	0,6	II	1,1	II	1,4
Dactylis glomerata	c	II	1,3	I	1,1	II	2,2	II	1,2
Circaea lutetiana	c	III	236,3			II	2,2	I	11,2
Calamagrostis arundinacea	c	II	1	II	97,8	III	556,7	II	53,2
Geranium robertianum	c	V	66			II	1,1	II	1,5
Polytrichum commune	d			II	97,8	II	194,4	I	43
Myosotis sylvatica	c			I	0,6	V	7,8		
Gnaphalium sylvaticum	c			I	0,6	IV	200		
Carex echinata	c					V	395,6		
Fragaria vesca	c	II	0,7	II	1,7	V	8,9	I	0,4
Calamagrostis epigeios	c	I	0,3	III	2,8	IV	560	II	63,2
Chaerophyllum temulentum	c	III	3,3						
Chelidonium majus	c	III	293,7						
Polytrichastrum formosum	d	I	0,3	II	195,6	II	2,2	I	53,5
Galium mollugo	c	II	2		0,6	II	194,4	I	0,4
Hieracium murorum	c					II	1,1	I	0,8
Dryopteris carthusiana	c	I	0,3	II	1,1	II	1,1	I	0,5
Brachythecium rutabulum	d			I	0,6	II	1,1	I	32,3
Athyrium filix-femina	c	I	2,3			II	1,1	I	21,3
Lysimachia nummularia	c	II	59,7	I	0,6	II	1,1	I	0,2
Alliaria petiolata	c	III	2,7					I	0,2
Galium aparine	c	II	1,7					I	0,4
Molinia caerulea	c			V	2197			I	19,7
Cirsium oleraceum	c	III	61						
Anthoxanthum odoratum	c	I	0,3	II	1,1	II	1,1	I	0,4
Humulus lupulus	c	II	59,7	I	97,8			I	0,2
Plagiomnium affine	d			II	2,2			I	0,4
Carex remota	c	II	1	I	0,6	II	1,1	I	19,9
Arctium minus	c	II	1,7	I	1,1			I	0,1

Gatunek	Warstwa	Zbiorowisko *Picea-abies Sambucus nigra*		Wilgotne świerczyny		Zbiorowisko porębowe z *Picea abies*		Zbiorowisko *Picea abies - Oxalis acetosella*	
Quercus petraea	b2					II	1,1	I	0,1
Quercus petraea	c			I	0,6			I	0,2
Quercus petraea	*juv*			II	1,1			I	0,2
Ulmus laevis	a3	I	58,7						
Ulmus laevis	b1	II	1,3					I	10,7
Ulmus laevis	b2							I	0,1
Ulmus laevis	c	I	0,3	II	1,1			I	0,2
Ulmus laevis	*juv*							I	0,1
Larix decidua	a1	II	60			II	195,6	I	32,1
Larix decidua	a2	I	0,3						
Larix decidua	*juv*							I	0,1
Fraxinus excelsior	a1							I	21,2
Fraxinus excelsior	a2							I	10,7
Fraxinus excelsior	c	II	1,3			II	1,1	I	0,1
Fraxinus excelsior	*juv*	I	0,3					I	0,1
Prunus padus	b1	II	1,3					I	10,7
Prunus padus	b2					II	1,1	I	0,1
Prunus padus	*juv*							I	0,2
Betula pubescens	a1			II	1,1				
Betula pubescens	a3	I	0,3						
Quercus rubra	a3							I	0,1
Quercus rubra	c					II	1,1	I	0,2
Quercus rubra	*juv*							I	0,6
Robinia pseudoacacia	c							I	0,1
Robinia pseudoacacia	*juv*							I	0,1
Crataegus monogyna	a3	I	0,3						
Crataegus monogyna	b1	I	0,7						
Crataegus monogyna	b2	I	0,7					I	10,7
Crataegus monogyna	c	I	0,3						
Crataegus monogyna	*juv*	I	0,7					I	0,1
Viburnum opulus	b2	II	1						
Viburnum opulus	c	I	0,7					I	0,1
Stellaria media	c	II	2	II	2,2			III	2,5

Gatunek	Warstwa	Zbiorowisko *Picea-abies Sambucus nigra*		Wilgotne świerczyny		Zbiorowisko porębowe z *Picea abies*		Zbiorowisko *Picea abies - Oxalis acetosella*	
Holcus mollis	c	I	0,3			II	2,2	I	0,2
Leucobryum glaucum	d							I	21,6
Rubus species	c	I	0,7			II	1,1	I	0,3
Polytrichum formosum	d	I	0,3	I	0,6			I	30,5
Melica uniflora	c	I	0,3	I	0,6			I	0,3
Hedera helix	c	I	0,7					I	30,5
Veronica hederifolia	c	II	1					I	0,2
Rumex acetosella	c					II	2,2	I	0,3
Anthriscus sylvestris	c	II	1,3			II	1,1		
Glechoma hederacea	c	II	1,7			II	1,1		
Mnium affine	d	I	0,3			II	1,1	I	0,2
Eupatorium cannabinum	c	II	1,3	I	1,1				
Galeopsis bifida	c	I	0,7					I	0,2
Hypnum cupressiforme	d			I	97,2			I	21,4
Viola species	c	I	0,3			II	2,2	I	0,1
Dactylis polygama	c							I	0,3
Equisetum pratense	c							I	0,3
Poa pratensis	c							I	0,2
Kindbergia praelonga	d	II	0,7	I	1,1				
Plagiothecium curvifolium	d			II	1,1	II	1,1	I	0,1
Arrhenatherum elatius	c	I	0,3			II	1,1	I	0,1
Veronica chamaedrys	c	I	0,3					I	0,2
Ranunculus acris	c	II	1						
Pyrus communis	c							I	0,2
Epilobium hirsutum	c	I	0,7					I	0,1
Scutellaria galericulata	c	II	1						
Festuca rubra	c	I	0,3					I	0,2
Melampyrum nemorosum	c	I	0,7					I	0,1
Hieracium sabaudum	c							I	0,2
Pseudoscleropodium purum	d							I	10,8
Crataegus species	*juv*	I	0,3					I	0,1
Ajuga reptans	c	I	0,3					I	0,1
Stellaria holostea	c							I	0,2

Gatunek	Warstwa	Zbiorowisko *Picea-abies Sambucus nigra*		Wilgotne świerczyny		Zbiorowisko porębowe z *Picea abies*		Zbiorowisko *Picea abies-Oxalis acetosella*	
Moehringia trinervia	c	II	2	I	0,6			II	1,5
Viola sylvestris	c	II	2					II	1,8
Lycopus europaeus	c	I	58,3						
Hypericum maculatum	c			I	0,6				
Anemone sylvestris	c	I	0,3						
Oxalis stricta	c							I	0,1
Agrostis capillaris	c			I	0,6				
Rosa canina	c			I	0,6	II	1,1		
Reynoutria japonica	c	I	0,3						
Ulmus minor	b2	I	0,3						
Equisetum sylvaticum	c	I	0,7						
Calystegia sepium	c	I	0,7						
Lamium album	c	I	0,7						
Stellaria neglecta	c	I	0,3						
Carex pilosa	c							I	0,1
Plagiothecium cavifolium	d	I	0,3						
Mnium undulatum	d	I	0,3						
Mnium hornum	d		0	II	1,1				
Sphagnum magellanicum	d			II	97,8				
Hypnum jutlandicum	d							I	0,1
Thuidium tamariscinum	d	I	0,3					I	10,6
Convallaria majalis	c							I	10,7
Plagiomnium undulatum	d							I	10,7
Eurhynchium hians	d							I	0,1
Lapsana communis	c	I	2,7	I	0,6	II	2,2	I	0,4

Gatunek	Warstwa	Zbiorowisko *Picea-abies Sambucus nigra*		Wilgotne świerczyny		Zbiorowisko porębowe z *Picea abies*		Zbiorowisko *Picea abies-Oxalis acetosella*	
Ribes rubrum	b2					II	1,1	I	0,1
Hieracium lachenalii	c							I	0,2
Carex species	c							I	0,2
Vincetoxicum hirundinaria	c							I	0,2
Ribes aureum	c							I	0,2
Pulmonaria obscura	c							I	10,7
Dicranum polysetum	d							I	0,2
Plagiomnium species	d			I	0,6			I	0,1
Cardamine sylvatica	c	I	0,3					I	0,1
Polygonum aviculare	c	I	0,3					I	0,1
Eurhynchium angustirete	d							I	10,7
Carex hirta	c					II	1,1		
Plantago major	c	I	0,3			II	1,1		
Geum rivale	c	I	0,3					I	0,1
Sorbus aira	*juv*	I	0,7						
Melandrium pratense	c							I	0,1
Festuca sylvatica	c	I	0,3						
Anemone species	c							I	0,1
Festuca gigantea	c	I	0,3						
Festuca arundinacea	c	I	0,3						
Galium palustre	c							I	0,1
Cornus mas	c	I	0,3						
Euphorbia cyparissias	c							I	0,1
Solidago canadensis	c	I	0,3						
Melandrium album	c					II	1,1		

Zbiorowisko zajmuje gleby mineralne z płytko stagnującą wodą gruntową oraz w różnym stopniu zdegradowane gleby organiczne. Na siedliskach najbardziej wilgotnych, gdzie woda gruntowa stagnuje około 50 cm pod poziomem gruntu, widoczna jest struktura kępkowo-dolinowa. Płaty lasów wilgotnych z *Picea abies* występują również na szczytach wałów morenowych, gdzie warunkiem ich występowania jest obecność warstw wodonośnych.

Zbiorowisko *Picea abies-Oxalis acetosella* – wyróżniono na podstawie analizy 169 zdjęć fitosocjologicznych. W badanych płatach widoczna jest dominacja następujących gatunków roślin naczyniowych: *Oxalis acetosella*, *Impatiens parviflora*, *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray, *Milium effusum* L. i *Mycelis muralis* (L.) Dumort. Wymienione taksony osiągają najwyższy stopień stałości, *Oxalis acetosella* występuje łanowo, niemal w każdym badanym płacie. W warstwie runa pojawiają się również często gatunki takie jak: *Rubus idaeus* L., *Rubus caesius* L., *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, *Galeopsis tetrahit* L., *Deschampsia flexuosa* L., *Stellaria media* (L.) Vill., *Urtica dioica* L., *Gymnocarpium dryopteris* (L.) Newman. Na żyźniejszych siedliskach, z dużą frekwencją, występują taksony takie jak: *Circaea lutetiana* L., *Poa nemoralis* L., *Viola sylvestris* Jordan ex Bor., *Stachys sylvatica* L., *Galium sylvaticum*, *Melica nutans* L., *Galium odoratum* (L.) Scop., *Aegopodium podagraria* L. Wymienione gatunki dominują na siedliskach żyznych lasów liściastych, często w granicach zwartego zasięgu buka. W warstwie runa spotyka się taksony charakterystyczne dla klas: *Querco-Fagetea* i *Vaccinio-Piceetea* oraz *Epilobietea angustifolii* R.Tx. et Prsg, *Artemisietea* Lohm., Prsg et R. Tx. in R.Tx., *Molinio-Arrhenatheretea* i *Rhamno-Prunetea* Rivas Goday et Garb. W płatach *Picea abies-Oxalis acetosella* warstwa runa osiąga od 15% do 90%, a zazwyczaj pokrycie wynosi 50–70%. Do specyficznych cech kompozycji gatunkowej należy duży udział gatunków acidofilnych. W omawianej warstwie występują głównie taksony cienioznośne.

Fizjonomia warstwy zielnej przypomina bory sosnowe, choć opisywane zbiorowisko występuje głównie na siedliskach lasowych, w tym lasów świeżych i lasów mieszanych świeżych. O acydofilnym charakterze runa decyduje także udział gatunków typowych dla klasy *Vaccinio-Piceetea*, takich jak: *Hieracium murorum* L., *Deschampsia flexuosa*, *Vaccinium vitis-idaea* L., *Vaccinium myrtillus*, *Maianthemum bifolium*, *Trientalis europaea*. W miejscach, gdzie drzewostan świerkowy osiąga mniejsze zwarcie, pojawiają się skupienia gatunków nitrofilnych.

Rozwój warstwy mszystej jest mocno zróżnicowany. Pokrycie przez gatunki mszaków wynosi od 1% do 80%. W niektórych płatach warstwa mszysta nie występuje. W starszych drzewostanach wykształca się często flora mszaków epifitycznych.

Warstwa krzewów jest na ogół słabo rozwinięta. Występują w niej między innymi: *Rubus idaeus* i *Rubus caesius*, które pojawiają się w miejscach prześwietlonych oraz na okrajku. W obrębie badanych płatów świerk nie pojawia się licznie w warstwie krzewów, obserwowano jego występowanie jedynie na kilku zdjęciach, gdzie nie osiągał wysokiego pokrycia. Często w warstwie podszytu pojawia się z kolei *Fagus sylvatica* L., który wprowadzano w ramach podsadzeń produkcyjnych. Pośród krzewów występują również: *Sambucus nigra*, *Sorbus aucuparia*, *Frangula alnus*, *Quercus robur* L., *Acer pseudoplatanus* L. i *Corylus avellana*.

Największy udział w drzewostanie ma *Picea abies*, który tworzy zazwyczaj równą pod względem wysokości warstwę. W badanych płatach świerk często jest jedynym gatunkiem w warstwie drzew, w pozostałych przypadkach towarzyszą mu *Fagus sylvatica* i *Pinus sylvestris*, sporadycznie: *Carpinus betulus*, *Acer platanoides* i *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco.

Płaty zbiorowiska występują głównie na siedliskach zasobnych w składniki pokarmowe, opisanych w typologii leśnej jako las świeży i las mieszany świeży. Większość płatów zinwentaryzowano na obszarach morenowych. Zbiorowisko *Picea abies-Oxalis acetosella* jest fitocenozą zastępczą, która w wielu przypadkach powstała na miejscach zajętych przez żyzne buczyny i inne lasy liściaste. Często płaty omawianego zbiorowiska notowano w kompleksach dużych lasów liściastych, na glebach żyznych i trudno przepuszczalnych. Na pojedynczych stanowiskach zbiorowisko rozwija się w lokalnych zagłębieniach terenu. Płaty opisywanej fitocenozy występują również na stromych stokach moreny czołowej, gdzie nachylenie terenu wynosi od 10 do 60 stopni.

Płaty zbiorowiska *Picea abies-Oxalis acetosella* są związane z siedliskami, które od dawna były zajęte przez lasy liściaste. Nie obserwowano płatów tego zbiorowiska na gruntach porolnych.

Zbiorowisko *Sambucus nigra-Picea abies* – wyróżniono na podstawie analizy 11 zdjęć fitosocjologicznych. Pośród gatunków lokalnie charakterystycznych, należy wymienić: *Sambucus nigra*, *Urtica dioica*, *Stachys sylvatica*, *Chelidonium majus* L., *Geranium robertianum* L., *Geum urbanum* L., *Rubus idaeus*.

W budowie pionowej zbiorowiska można zauważyć dwie, wyraźnie zaznaczone, warstwy. Warstwa drzew jest zdominowana przez *Picea abies*. Równolegle ze świerkiem, który dominuje wysokością, w drzewostanie sporadycznie występuje buk, wiąz szypułkowy, klon jawor i grab. Drzewostan świerkowy cechuje z reguły umiarkowane zwarcie koron. Różnice wysokości pomiędzy poszczególnymi drzewami są nieznaczne. Pod okapem drzewostanu świerkowego występują drzewiaste formy *Sambucus nigra*, które osiągają wysokość do 10 metrów. W większości, spo-

śród opisywanych zbiorowisk, dominują formy drzewiaste bzu czarnego, wyraźnie tworząc dwie warstwy. Warstwa krzewiasta z *Sambucus nigra* jest słabiej rozwinięta; w badanych płatach nie obserwowano licznego odnowienia naturalnego tego gatunku. W warstwie drzew oraz w warstwie krzewów pojawia się leszczyna oraz jarząb pospolity. Pośród niższych krzewów istotny udział ma także: *Rubus idaeus* i *R. caesius*.

Warstwa runa charakteryzuje się niskim pokryciem, wahającym się od 10% do 50%. Silne zwarcie w obrębie warstwy podszytu uniemożliwia rozwój roślin zielnych. Do specyficznych cech kompozycji gatunkowej należy udział gatunków nitrofilnych takich jak: *Sambucus nigra*, *Aegopodium podagraria*, *Fragaria vesca* L., *Urtica dioica*. Gatunki w warstwie zielnej są rozmieszczone bardzo nierównomiernie. W niektórych płatach wyraźnie widoczna jest dominacja: *Urtica dioica* i *Aegopodium podagraria*. W omawianej warstwie zaznaczają swoją obecność gatunki zbiorowisk porębowych i ruderalnych. W podszycie występują odrośla gatunków takich jak: *Acer pseudoplatanus*, *Tilia cordata* Mill. Klasę *Querco-Fagetea* reprezentują głównie wcześniej wymienione drzewa oraz niektóre rośliny naczyniowe runa. Warstwa złożona z gatunków roślin naczyniowych wykształca się zazwyczaj w miejscach prześwietlonych. Silne zwarcie krzewów i drzew bzu czarnego, zwłaszcza w okresie wegetacyjnym, utrudnia docieranie światła do dna lasu.

Omawiane zbiorowisko występuje w miejscach, gdzie drzewostan jest silnie prześwietlony, zazwyczaj na skutek silnych wiatrów lub w wyniku prowadzenia gospodarki leśnej. Płaty zbiorowiska *Sambucus nigra-Picea abies* zaobserwowano głównie wśród kompleksów eutroficznych lasów liściastych. Płaty omawianej fitocenozy najczęściej występują na żyznych i trudno przepuszczalnych glebach, w zasięgu moreny czołowej. Na pojedynczych stanowiskach, zbiorowisko występuje na bardzo stromych stokach wąwozów w ciągu moreny czołowej.

Opisywana fitocenoza występuje głównie na siedliskach silnie zmienionych przez działalność człowieka. Zbiorowisko wykształca się w miejscach, gdzie dawniej występowały siedziby ludzkie i drogi leśne bądź szlaki zrywkowe.

Zbiorowisko porębowe z *Picea abies* – wykazuje lokalne zróżnicowanie, które zależy od stopnia prześwietlenia drzewostanu świerkowego, jego położenia względem powierzchni otwartych i innych drzewostanów. Płaty omawianego zbiorowiska występują w miejscach, gdzie drzewostan jest mocno przerzedzony, zazwyczaj na skutek silnych wiatrów lub gospodarki leśnej. Fitocenoza występuje zazwyczaj pośród drzewostanów użytkowanych rębniami gniazdowymi. Zbiorowisko porębowe z *Picea abies* występuje wśród kompleksów eutroficznych lasów liściastych na żyznych glebach.

Mocno rozluźniony drzewostan tworzy głównie świerk, w niższych warstwach występuje buk oraz sporadycznie sosna i brzoza. W niektórych lokalizacjach, pomimo mocnego zwarcia drzewostanu, jego kształt i brak wykształconego okrajka pozwalają na wnikanie światła do zbiorowiska i umożliwiają rozwój gatunków tworzących kombinację charakterystyczną dla poręb.

W warstwie runa, wyraźnie widoczny jest udział następujących gatunków: *Myosotis sylvatica* Ehrh. ex Hoffm., *Gnaphalium sylvaticum* L., *Carex echinata* Murray (non Kuekenthal), *Fragaria vesca*, które są charakterystyczne dla zrębów. W warstwie zielnej pojawiają się także gatunki z klasy: *Querco-Fagetea* i *Vaccinio-Picetea*. Podszyt tworzy głównie: *Rubus idaeus* i *Rubus caesius*. W miejscach mocniej nasłonecznionych pojawia się *Sorbus aucuparia*.

Zbiorowisko wykształca się przede wszystkim w miejscach, gdzie drzewostan jest przebudowywany lub usuwany w ramach rębni częściowych, co tworzy specyficzne warunki świetlne. Wąskie pasy drzewostanów świerkowych (szerokość 60–90 m), tworzą warunki świetlne, umożliwiające rozwój fitocenozy. Badane płaty mają charakter przejściowy, pomiędzy zbiorowiskami porębowymi a fitocenozą *Picea abies-Oxallis acetosella*.

Niektóre antropogeniczne świerczyny cechuje brak gatunków wyróżniających, pozwalający zaliczyć je do opisanych zbiorowisk. Nie występują tutaj gatunki charakterystyczne dla lasów świerkowych Pomorza Zachodniego, takie jak: *Oxalis acetosella*, *Impatiens parviflora*, *Mycelis muralis* i *Milium effusum*. Swoją strukturą i składem gatunkowym badane płaty odpowiadają borom sosnowym. W warstwie zielnej zaznacza się udział gatunków klasy *Vaccinio-Picetea* oraz znikomy udział taksonów przechodzących z klasy *Querco-Fagetea*.

5. Dyskusja

Świerczyny antropogeniczne, podobnie jak drzewostany złożone z innych gatunków obcych geograficznie, rzadko są przedmiotem badań geobotanicznych (Vor 2005). Dotychczas prace dotyczące obcych gatunków drzewiastych, koncentrowały się głównie na ich rozmieszczeniu, zdolności do ekspansji, roli w sukcesji wtórnej, czy też zdolności do inwazji w określonych warunkach siedliskowych, zazwyczaj w granicach uznanego zasięgu (Bernier i in. 2011).

W podobnych warunkach siedliskowych wykształcają się zbliżone typy lasów świerkowych. W zależności od lokalnych warunków, wpływu człowieka i innych czynników, tendencje dynamiczne i kierunki przemian zbiorowisk leśnych kształ-

tują się w rozmaity sposób (Orczewska 2009). Wyróżnione jednostki są zróżnicowane pod względem składu gatunkowego, jednak określony zestaw gatunków pojawia się niemalże na każdym zdjęciu fitosocjologicznym. Świerczyny antropogeniczne zajmują przeważnie siedliska buczyn i grądów, świerk rzadko wprowadzano na siedliska borów sosnowych. Świerczyny antropogeniczne stanowią jednolitą, pod względem gatunkowym, grupę zbiorowisk. Gatunki sporadyczne oraz osiągające niższe stopnie stałości, wpływają na pozorne zróżnicowanie płatów badanych fitocenoz. Gatunki tworzące zrąb roślinności lasów świerkowych Pomorza Zachodniego są głównie taksonami o szerokiej amplitudzie ekologicznej. Runo antropogenicznych świerczyn odznacza się stosunkowo dużym udziałem gatunków przypadkowych, które przechodzą z innych zbiorowisk, w tym łąkowych, ruderalnych i segetalnych. Pod okapem drzewostanu świerkowego wykształcają się odmienne warunki siedliskowe, jakie stwarzają szanse rozwoju roślin acido- i nitrofilnych. Świerk wydaje się być czynnikiem, który, poprzez zmiany w siedlisku, najbardziej wpływa na występowanie określonej grupy gatunków runa. Podobne zależności występują w innych zbiorowiskach z dominacją gatunków obcego pochodzenia (Whitehead 2006). Lasy świerkowe, poprzez tworzenie specyficznych warunków świetlnych, sprzyjają występowaniu pewnej grupy taksonów oraz wytwarzaniu się charakterystycznej struktury lasu. Specyficzny garnitur gatunków roślin naczyniowych wykształca się wyraźnie w miejscach, gdzie świerk jest uprawiany od kilku pokoleń.

W większości przypadków świerk występuje na siedliskach zasobnych, z płytko zalegającą wodą gruntową. W wielu nadleśnictwach Polski północno-zachodniej świerk jest gatunkiem o małym znaczeniu dla gospodarstwa leśnego, jednak jest to gatunek rodzimy w Polsce, więc eliminacja drzewostanów z jego udziałem nie powinna mieć miejsca w sytuacji, gdy wykazuje on dużą witalność i pojawia się bogate odnowienie naturalne. Podobny pogląd w swojej pracy wyrazili Szydlarski i Modrzyński (2015), biorąc pod uwagę drzewostany na Pojezierzu Kaszubskim. Autorzy stwierdzili również, że potencjalny zasięg świerka uzasadnia jego hodowle na Pomorzu Zachodnim. *Picea abies* jest gatunkiem, który nie wykazuje dużej ekspansywności – w porównaniu do innych gatunków drzew i krzewów, które wprowadzono do zbiorowisk leśnych, jak na przykład czeremcha amerykańska (Chabrerie i in. 2010). Występujący na Pomorzu Zachodnim świerk w wielu miejscach przegrywa konkurencję z bukiem, który znajduje w warunkach Polski północno-zachodniej lepsze warunki do odnowienia.

Świerczyny antropogeniczne Pomorza Zachodniego są zbiorowiskami, które nie posiadają własnych gatunków charakterystycznych. Można jednak opisać taksony, które szczególnie często występują w warstwie runa, nie pojawiają się nato-

miast z taką samą częstotliwością w runie przyległych drzewostanów zbliżonych do naturalnych. Zbiorowiska antropogeniczne są postrzegane jako sztuczne twory o zawsze uproszczonym składzie gatunkowym (Vor 2005). Należy zauważyć, że w niektórych przypadkach świerczyny antropogeniczne, strukturą i składem gatunkowym warstwy runa przewyższały zbiorowiska zaliczone do lasów naturalnych, jednak pozorne bogactwo gatunkowe zazwyczaj wynikało z dużego udziału gatunków sporadycznych i obcych dla zbiorowisk leśnych.

Literatura

Atlas klimatycznego ryzyka uprawy roślin w Polsce. 2001. Koźmiński C. (red.), Michalska B. Wyd. AR, Szczecin.

Atlas podziału hydrograficznego Polski. 2005. Czarnecka H. Wyd. IMGW, Warszawa.

Bernier P., Braatz S., Felicani-Robles F., Mollicone D. 2011. The role of forests in climate change adaptation and mitigation. [W:] Flejzor L., Higman S., Ink G. (red.). State of the World's Forests. FAO, Rome, 213: 209–228.

Borówka R. K. 2005. Budowa geologiczna i rozwój rzeźby Pomorza Zachodniego. [W:] Borówka R. K., Musielak S. (red.). Środowisko przyrodnicze wybrzeży Zatoki Pomorskiej i Zalewu Szczecińskiego. Wyd. Oficyna In Plus, Szczecin: 6–105.

Chabrerie O., Loinard J., Perrin S., Saguez R., Decocq G. 2010. Impact of *Prunus serotina* invasion on understorey in a European temperate forest. Biol. Invasions 12(6): 1891–1907.

Faliński J. B. 2004. Inwazje w świecie roślin: mechanizmy, zagrożenia, projekt badań. Phytocoenosis 16 (NS). Sem. Geobot., 10: 1–32.

Hennekens S. M., Schaminée J. H. J. 2001. Turboveg, a comprehensive database management system for vegetation data. J. Veg. Sci., 12: 589–591.

Kondracki J. 2000. Geografia regionalna Polski. PWN, Warszawa.

Kondracki J. 2009. Geografia regionalna Polski. PWN, Warszawa.

Matuszkiewicz J. M. 2008. Regionalizacja geobotaniczna Polski, IGiPZ PAN, Warszawa.

Mueller-Dombois D., Ellenberg H. 2003. Aims and Methods of Vegetation Ecology. The Blackburn Press. New Jersey.

Orczewska A. 2009. Migration of herbaceous woodland flora into post-agricultural black alder woods planted on wet and fertile habitats in south western Poland. Plant. Ecol., 204: 83–96.

Szydlarski M, Modrzyński J. 2015. Wzrost powierzchni naturalnego odnowienia świerka pospolitego (*Picea abies* L. Karst.) na Pojezierzu Kaszubskim w latach 2002–2012. Leśne Prace Badawcze, 76 (1): 66–72.

Tichý L. 2002. JUICE, software for vegetation classification. J. Veg. Sci., 13: 451–453.

Tokarska-Guzik B., Dajdok Z., Zając M., Zając A., Urbisz A., Danielewicz W., Hołdyński C. 2012. Rośliny obcego pochodzenia w Polsce ze szczególnym uwzględnieniem gatunków inwazyjnych. Generalna Dyrekcja Ochrony Środowiska, Warszawa.

Van Tongeren O., Gremmen N., Hennekens S. 2008. Assignment of relevés to pre-defined classes by supervised clustering of plant communities using a new composite index. J. Veg. Sci., 19: 525–536.

Vor T. 2005. Natural regeneration of *Quercus rubra* L. (*Red Oak*) in Germany. [W:] Nentwig W., Bacher S., Cock M. J. W., Dietz H., Gigon A., Wittenberg R. (red.), Biological Invasions – from ecology to control. Neobiota 6: 111–123.

Whitehead D. C. 2006. Carbon, nitrogen, phosphorus and sulphur in herbage plant roots. Grass Forage Sci., 25 (3): 236–241.

3 Różnorodność biologiczna doliny rzeki Czarnej a koncepcja urbanistyczna jej przestrzennego zagospodarowania w miejscowości Katrynka

Grażyna **Łaska**

Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska,
Katedra Inżynierii Rolno-Spożywczej i Kształtowania Środowiska
ul. Wiejska 45 A, 15-351 Białystok
e-mail: g.laska@pb.edu.pl

Streszczenie: Celem pracy jest określenie różnorodności biologicznej wybranego fragmentu doliny rzeki Czarnej w świetle oceny oddziaływania na środowisko planowanej inwestycji – zespołu restauracyjno-hotelowo-konferencyjnego**.** Procedury metodyczne stanowią kompilację badań terenowych (inwentaryzacji przyrodniczej, badań kartograficznych i fitosocjologicznych) oraz waloryzacji przyrodniczej, połączonej z metodami syntaksonomii numerycznej programu MVSP (*Cluster Analysis* i *PCA*). Badania szaty roślinnej doliny Czarnej prowadzono w 2014 roku, wykonując 42 zdjęcia fitosocjologiczne zbiorowisk roślinnych, z punktowym kartowaniem techniką GPS. Walory przyrodnicze szaty roślinnej określono na podstawie metody waloryzacji siedlisk mokradłowych według Oświta (2000).

Na podstawie badań fitosocjologicznych i kartograficznych szaty roślinnej wybranego fragmentu doliny Czarnej, zidentyfikowano 12 zbiorowisk roślinnych z 5 klas syntaksonomicznych oraz stanowiska 2 chronionych gatunków roślin. W badaniach stwierdzono, że teren planowanej inwestycji reprezentują dobrze wykształcone płaty roślinne siedlisk mokradłowych (szuwary trzcinowe, turzycowiska, łąki wilgotne, ziołorośla połąkowe), obok nielicznych zbiorowisk leśnych na siedliskach świeżych, oraz zbiorowisk ruderalnych i synantropijnych, towarzyszących zabudowaniom miejscowości Katrynka. Klasyfikacja hierarchicznej kumulacji (*Cluster Analysis*) i ordynacji (*PCA*) wykazały uporządkowanie punktów badawczych, zgodnie z gradientem wilgotności siedlisk oraz strukturą i składem gatunkowym zbiorowisk. Dokonana ocena walorów przyrodniczych w dolinie Czarnej wskazuje na obecność zbiorowisk na siedliskach hydrogenicznych w randze obiektów od dużych (klasa VII), umiarkowanie dużych (klasa VI) i średnich walorów przyrodniczych (V), do małych walorów (klasa II), które określono dla zbiorowisk leśnych na siedliskach świeżych. W ocenie stwierdzono bezpośredni i negatywny wpływ oddziaływania planowanej inwestycji na zbiorowiska roślinne doliny Czarnej.

Słowa kluczowe: zespół restauracyjno-hotelowo-konferencyjny, syntaksonomia, metody numeryczne, klasy waloryzacji, ocena oddziaływania planowanej inwestycji.

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 50-63

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

W Białymstoku i jego okolicach poszukiwane są różne zielone wyspy w celu ich przestrzennego zagospodarowania. Jednym z takich miejsc stał się fragment doliny rzeki Czarnej, w odległości 12 km na północ od Białegostoku, położony w miejscowości Katrynka, na terenie Nadleśnictwa Dojlidy, w otulinie Parku Krajobrazowego Puszczy Knyszyńskiej. Dolina Czarnej znajduje się również na obszarach sieci Natura 2000 – Specjalnym Obszarze Ochrony Siedlisk (SOO) Ostoja Knyszyńska PLH200006 i Obszarze Specjalnej Ochrony Ptaków (OSO) Puszcza Knyszyńska PLB200003 (www.natura2000.gdos.gov.pl). Projekt koncepcji urbanistycznej budowy zespołu restauracyjno-hotelowo-konferencyjnego obejmuje obszar 1,74 ha, w bezpośrednim sąsiedztwie doliny rzeki Czarnej.

Działalność człowieka w dużej mierze decyduje o stopniu zachowania i kierunkach przemian zbiorowisk roślinnych w dolinach rzecznych, poprzez zmiany w sposobie ich użytkowania (Henry i in. 2002; Collinge 2009; Faulkner i in. 2011; Łaska 2015). W drugiej połowie XX wieku, na terenie Polski, doliny rzeczne odlesiano i meliorowano siecią rowów, użytkując je jako użytki zielone. W pobliskim ich sąsiedztwie postępowało osadnictwo i powstawały zabudowania, a grunty rolne użytkowano kośnie, wypasano lub nawożono – kształtując zbiorowiska łąkowe (Kozłowska 2005; Kryszak, Kryszak 2007, Łaska 2009). Inne grunty porzucano i pozostawiano spontanicznym procesom dynamicznym, powodując dalsze przemiany zbiorowisk mokradłowych w dolinach rzecznych, w zależności od stopnia uwilgotnienia ich siedlisk (Dembek 2002; Dembek i in. 2002; Piórkowski 2002; Łaska 2008). W miejscowości Katrynka, w odległości 70–77 m od doliny rzecznej, rozciągają się zabudowania, którym towarzyszą grunty orne i zbiorowiska na siedliskach mokradłowych oraz sztucznie nasadzone młodniki i drągowiny sosnowe, jak też kształtujące się spontanicznie śródpolne zadrzewienia i zakrzewienia. Planowana budowa zespołu budynków, w kierunku wschodnim miałaby miejsce w odległości 77 m od koryta rzeki Czarnej, a w kierunku południowym – w odległości 7 m od czynnego rowu melioracyjnego. Celem badań jest określenie różnorodności biologicznej wybranego fragmentu doliny rzeki Czarnej, w świetle oceny oddziaływania na środowisko planowanej inwestycji, a szczególnie określenia walorów przyrodniczych szaty roślinnej na siedliskach mokradłowych. Dolina Czarnej znajduje się na obszarach sieci Natura 2000, celem ochrony których jest utrzymanie spontanicznych procesów ekologicznych, trwałości biotopów i zachowania ich różnorodności biologicznej (Kotowski 2002; Łaska 2011). Specyfika warunków fizjograficznych i procesów hydrologicznych, panujących w dolinach rzecznych, samoistnie kształ-

tuje ich dynamikę, a wszelkie zmiany stosunków wodnych i reżimu hydrologicznego w całej zlewni pod wpływem działań antropogenicznych zmieniają znacząco predyspozycje ekosystemów mokradłowych do pełnienia przez nie określonych funkcji w krajobrazie (Clausen i in. 2000; Cullum i in. 2006; Duffy, Kahara 2011). Stąd tak ważna jest ocena planowanej inwestycji na siedliska mokradłowe i analiza sposobu wykorzystania istniejących zasobów przyrody w dolinach rzecznych (King i in. 2006; Martin-Carrasco 2013).

2. Teren i obiekt badań

Badania prowadzono w północno-wschodniej Polsce, w województwie podlaskim, w gminie Wasilków, w miejscowości Katrynka, w dolinie rzeki Czarna, położonej w odległości 100 m na wschód od drogi krajowej S8 Białystok – Suwałki. Dolinę rzeki Czarnej od północnego zachodu otaczają grunty leśne Nadleśnictwa Dojlidy i obrębu Katrynka, które wchodzą w skład kompleksu leśnego Puszczy Knyszyńskiej. Rzeka Czarna stanowi jeden z pięciu głównych regionów – zlewni IV rzędu, gdzie razem z: górną Supraślą, Płoską, Sokołdą i Słoją, tworzy średnio rozwiniętą sieć rzeczną kompleksu puszczańskiego (Łaska 2006). Powierzchnia zlewni rzeki Czarnej osiąga 197 km^2, z czego 84% stanowią lasy Puszczy Knyszyńskiej, a pozostałą część zajmują grunty orne (10%) i użytki zielone (6%). Rzeka Czarna ma 31 km długości i jest prawobrzeżnym dopływem Supraśli, do której uchodzi w Wasilkowie. Teren badań w dolinie Czarnej, obejmuje dolny odcinek rzeki, oddalony o 5,5 km od jej ujścia do rzeki Supraśli.

Dolina Czarnej zajmuje obniżenie wytopiskowe, które budują głównie piaski humusowe i namuły den dolinnych oraz zagłębień bezodpływowych. W oddaleniu od cieku rzecznego, piaski humusowe i namuły den dolinnych przechodzą w gliny piaszczyste, a w wyższych wysokościach względnych – w piaski, żwiry i głazy lodowcowe wysoczyzny morenowej (arkusz „Szczegółowej Mapy Geologicznej Polski w skali 1:25000, Wasilków (300), Centralne Archiwum Państwowe Instytutu Geologicznego w Warszawie). Są to zdenudowane formy akumulacji lodowcowej i rzeczno-lodowcowej z okresu zlodowacenia środkowopolskiego.

3. Materiały i metody

W ocenie walorów przyrodniczych szaty roślinnej w dolinie Czarnej, wśród materiałów źródłowych analizowano jeden arkusz mapy topograficznej w skali 1:25000 „Sochonie" (245.21) oraz arkusze mapy topograficznej i ortofotomapy w skali 1:5000 z portalu geodezyjnego Geoportal (www.geoportal.gov.pl).

Badania terenowe w dolinie Czarnej prowadzono w 2014 roku, w dwóch terminach, z uwzględnieniem wczesnowiosennego pojawu geofitów (kwiecień) oraz w pełni sezonu wegetacyjnego (lipiec). Prace terenowe obejmowały badania fitosocjologiczne zbiorowisk roślinnych, badania kartograficzne roślinności i stanowisk chronionych gatunków roślin z wykorzystaniem techniki GPS oraz identyfikację siedliskową badanych płatów roślinnych. W badaniach wykonano 42 zdjęcia fitosocjologiczne: w zbiorowiskach leśnych (zastępczych) na powierzchni 200 m^2 (20×10 m) i w zbiorowiskach nieleśnych o powierzchni 50 m^2 (10×5 m), metodą Brauna-Blanqueta. Przynależność gatunków do poszczególnych jednostek roślinności przyjęto za Matuszkiewiczem (2001), nazwy gatunków roślin naczyniowych – za Mirkiem i in. (2002), a nazwy mszaków – za Ochyrą i in. (2003).

Identyfikacji zbiorowisk roślinnych dokonano na podstawie metod syntaksonomii numerycznej w programie MVSP ver. 3.2 (Kovach 1986–1993), z uwzględnieniem klasyfikacji hierarchicznej (*Cluster Analysis*) i technik ordynacji pośredniej PCA (*Principal Components Analysis*). Do oceny podobieństwa płatów roślinnych wykorzystano procent podobieństwa (*percent similarity*) i metodę średnich połączeń (*average-linkage*). Oceny wartości przyrodniczej szaty roślinnej w dolinie Czarnej dokonano na podstawie waloryzacji przyrodniczej mokradeł i siedlisk hydrogenicznych za Oświtem (2000). Mapę zbiorowisk roślinnych i stanowisk chronionych gatunków roślin w dolinie rzeki Czarnej, w miejscowości Katrynka, wykonano w skali 1:1000 – na bazie mapy zasadniczej w skali 1:1000 (PODGiK, Białystok).

4. Wyniki badań

Inwentaryzacja siedlisk przyrodniczych w dolinie Czarnej, w miejscowości Katrynka wykazała, że występują tu potencjalne krajobrazy roślinne na gruntach grądowych i łęgowych (40%) oraz na gruntach hydrogenicznych, bez torfów (53%) i z torfami (7%). W zróżnicowaniu florystycznym doliny Czarnej, w bezpośredniej strefie planowanej inwestycji, zidentyfikowano 12 zbiorowisk roślinnych, a jeden typ zbiorowiska – z Załącznika I Dyrektywy Rady 92/43/EWG – łąk trzęślicowych

(kod 6410 – *Molinietum caeruleae* W. Koch 1926) – stwierdzono w strefie pośredniej, po drugiej stronie koryta rzeki. Na terenie planowanej budowy zespołu restauracyjno-hotelowo-konferencyjnego występują zbiorowiska roślinne z 5 klas fitosocjologicznych, w tym dobrze wykształcone płaty roślinne siedlisk mokradłowych (szuwary trzcinowe, szuwary turzycowe, ziołorośla połąkowe i łąki wilgotne), obok nielicznych zbiorowisk ruderalnych i synantropijnych, towarzyszących zabudowaniom miejscowości Katrynka. Uwzględniając badane jednostki roślinności leśnej i nieleśnej, poszczególne syntaksony zidentyfikowano następująco (Ryc. 3.1):

Klasa: *Querco-Fagetea* Br.-Bl. et Vlieg. 1937
Rząd: *Fagetalia sylvaticae* Pawł. in Pawł., Sokoł. et Wall. 1928
Związek: *Carpinion betuli* Issl. 1931 em. Oberd.1953
Leśne zbiorowiska zastępcze na siedlisku grądu *Tilio-Carpinetum* Tracz. 1962
Młodniki sosnowe na siedlisku grądu *Tilio-Carpinetum* Tracz. 1962
Klasa: *Phragmitetea* R.Tx. et Prsg 1942
Rząd: *Phragmitetalia* W. Koch 1926
Związek: *Phragmition* W. Koch 1926
Grupa szuwarów typowych
Zespół: *Phragmitetum australis* (Gams 1927) Schmale 1939
Związek: *Magnocaricion* W. Koch 1926
Zbiorowiska wysokich turzyc kępkowych
Zespół: *Caricetum acutiformis* Sauer 1928
Zbiorowiska turzyc kępkowych, przeważnie torfotwórcze
Zespół: *Caricetum appropinquatae* (Koch 1926) Soó 1938
Klasa: *Molinio-Arrhenatheretea* R. Tx. 1937
Rząd: *Molinietalia caeruleae* W. Koch 1926
Związek: *Filipendulion ulmariae* Segal 1966
Zespół: *Lysimachio vulgaris-Filipenduletum* Bal.-Tul. 1978
Związek: *Molinion caeruleae* W. Koch 1926
Zespół: *Molinietum caeruleae* W. Koch 1926
Klasa: *Artemisietea vulgaris* Lohm., Prsg et R.Tx. in R.Tx. 1950
Podklasa: *Artemisienea vulgaris*
Rząd: *Onopordetalia acanthii* Br.-Bl. et R.Tx. 1943 em. Görs 1966
Związek: *Onopordion acanthii* Br.-Bl. 1926
Rząd: *Artemisietalia vulgaris* Lohm. in R.Tx. 1947
Związek: *Arction lappae* R.Tx. 1937 em. 1950

Klasa: *Stellarietea mediae* R. Tx., Lohm. Et Prsg 1950

Rząd: *Centauretalia cyanii* R. Tx. 1950

Związek: *Aperion spicae-venti* R. Tx. et J. Tx 1960

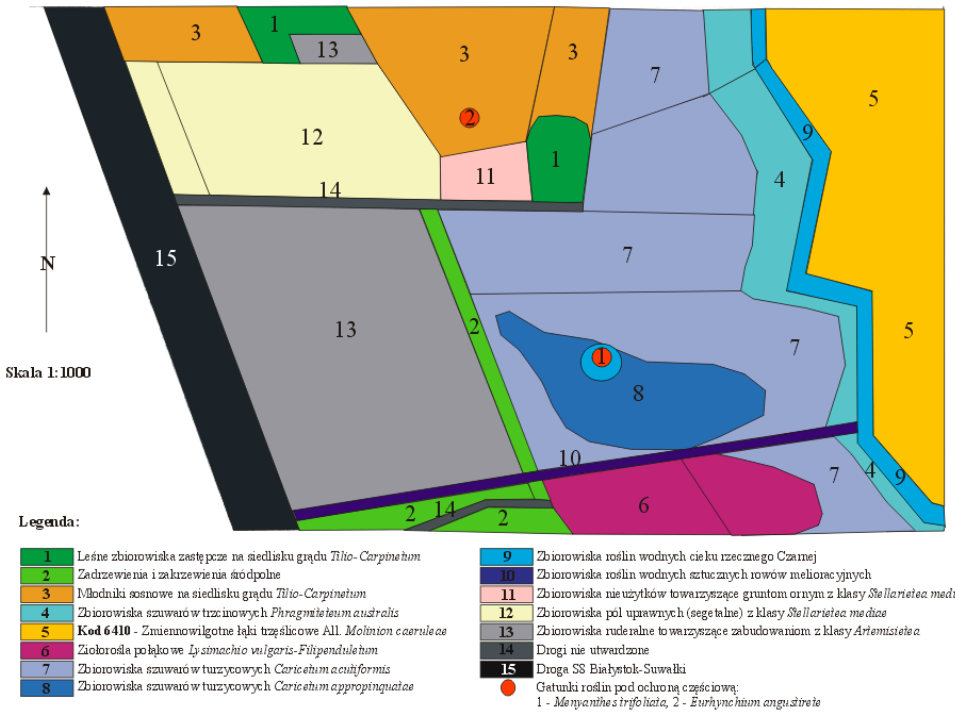
Rząd: *Polygono-Chenopodietalia* (R. Tx. et Lohm. 1950) J. Tx. 1961

Związek: *Polygono-Chenopodion* Siss. 1946

Rząd: *Sisymbrietalia* J.Tx 1961

Związek: *Sisymbrion officinalis* R.Tx., Lohm, Prsg 1950

Na badanym obszarze doliny rzeki Czarnej stwierdzono występowanie dwóch gatunków roślin objętych prawną ochroną częściową (Dz. U. 2014, poz. 1409). Jednym z tych gatunków jest *Menyanthes trifoliata* L. w zbiorowisku *Caricetum appropinquatae*, drugim – mech *Eurhynchium angustirete* (Broth.) T. J. Kop. na siedliskach lasu świeżego (Ryc. 3.1).

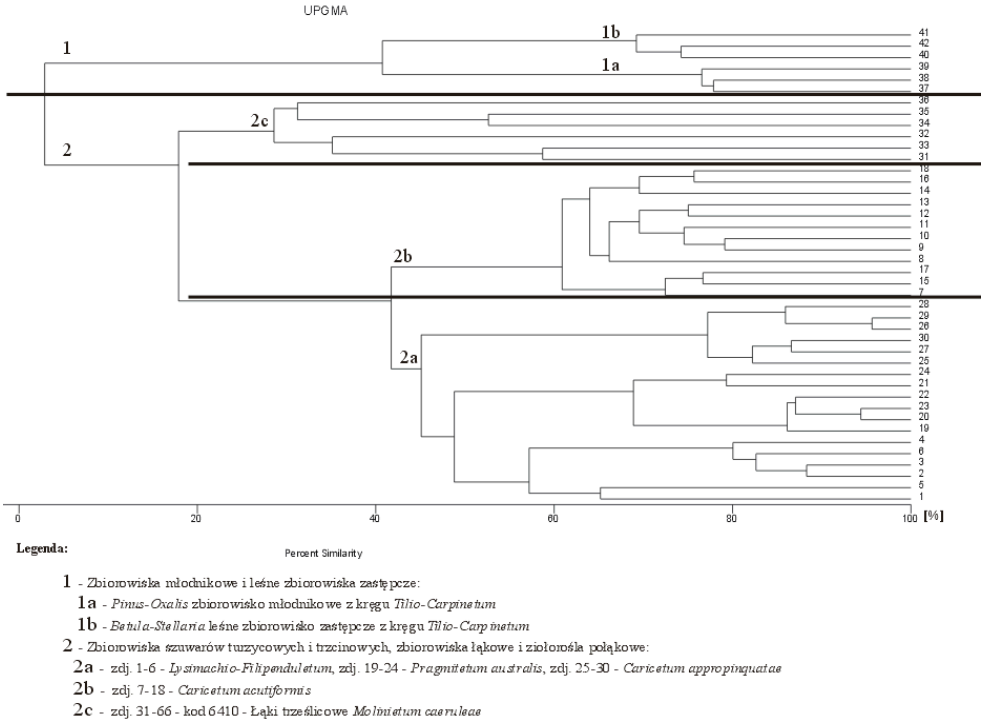


Rycina 3.1. Zróżnicowanie fitosocjologiczne i florystyczne szaty roślinnej w dolinie Czarnej, w miejscowości Katrynka

Źródło: badania własne.

4.1. Syntaksonomia numeryczna zbiorowisk roślinnych

Wyniki klasyfikacji numerycznej potwierdziły identyfikację terenową syntaksonów, które w zależności od stopnia uwilgotnienia siedlisk oraz struktury i składu gatunkowego, różnicują się na dwie odrębne grupy: zbiorowiska leśne na świeżych siedliskach – grupa 1, i zbiorowiska nieleśne na siedliskach hydrogenicznych – grupa 2 (Ryc. 3.2).



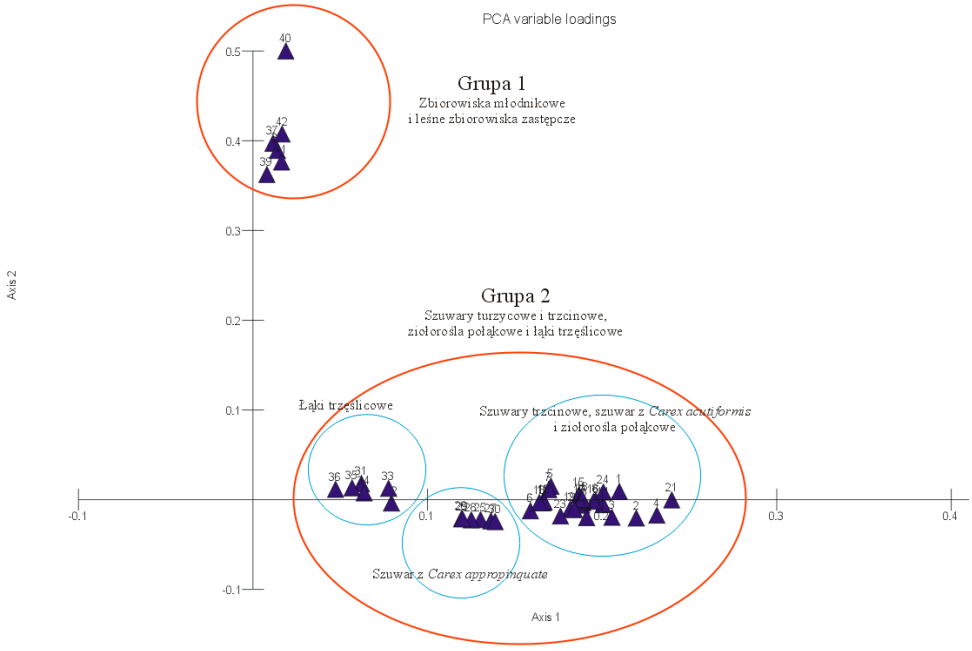
Rycina 3.2. Hierachiczna klasyfikacja (*Cluster Analysis*) zbiorowisk roślinnych w dolinie Czarnej

Źródło: badania własne.

Pierwsza grupa (zdjęcia 37–42) reprezentuje dwa typy zbiorowisk zastępczych na siedliskach grądowych z kręgu *Tilio-Carpinetum* – 1a – młodniki sosnowe *Pinus-Oxalis* (zdjęcia 37–39) i 1b – leśne zbiorowiska zastępcze z panującą brzozą *Betula-Stellaria* (zdjęcia 40–42). Grupa druga reprezentuje zbiorowiska nieleśne, szuwary trzcinowe i turzycowe klasy *Phragmitetea* oraz zbiorowiska łąkowe klasy *Molinio-Arrhenatheretea*. Różnicują się one na trzy podgrupy. Podgrupa 2a reprezentuje ziołorośla połąkowe *Lysimachio vulgaris-Filipenduletum ulmariae* (zdjęcia 1–6), szuwary trzcinowe *Phragmitetum australis* (zdjęcia 19–24) i szuwary wielko-

turzycowe *Caricetum appropinquatae* (zdjęcia 25–30). Podgrupa 2b to szuwary wielkoturzycowe *Caricetum acutiformis* (zdjęcia 7–18), które wyróżniają się od pozostałych asocjacji klasy *Phragmitetea* dominacją *Carex acutiformis*. Podgrupa 2c reprezentuje łąki trzęślicowe klasy *Molinio-Arrhenatheretea* (zdjęcia 31–36), typ siedliska naturowego (kod 6410) z Załącznika I Dyrektywy Rady 92/43/EWG, ze zdecydowaną dominacją *Molinia caerulea.*

W analizie ordynacji PCA stwierdzono zróżnicowanie płatów roślinnych w zależności od uwilgotnienia siedlisk oraz struktury i składu gatunkowego badanych zbiorowisk (Ryc. 3.3). Wartości własne (*eigenvalue*) dla pierwszej i drugiej osi PCA osiągają odpowiednio: 20,3% i 6,7%. W górnej części wykresu (grupa 1), największe wartości na osi drugiej osiągają zbiorowiska leśne (0,36–0,5), a w dolnej (grupa 2) na osi pierwszej – zbiorowiska nieleśne (0,05–0,24): szuwarowe, turzycowe i łąkowe (Ryc. 3.3).



Rycina 3.3. Analiza głównych składowych PCA (*Principal Components Analysis*) zbiorowisk roślinnych w dolinie Czarnej

Źródło: badania własne.

Gradient środowiskowy, reprezentowany przez pierwszą oś ordynacyjną, zinterpretowano jako gradient wilgotności siedlisk, gdyż zbiorowiska nieleśne: łąki

trześlicowe (0,05–0,08), szuwary turzycowe z *Carex appropinquata* (0,12–0,14) oraz szuwary trzcinowe *Phragmitetum australis*, szuwary wielkoturzycowe *Caricetum acutiformis* i ziołorośla połąkowe *Lysimachio vulgaris-Filipenduletum ulmariae* (0,16–0,24), łączą się w poszczególne grupy w zależności od stopnia uwilgotnienia siedlisk i zwiększającej się odległości od koryta rzecznego rzeki Czarnej. Gradient środowiskowy reprezentowany przez drugą oś ordynacyjną wskazuje na znaczne zróżnicowanie płatów roślinnych, uzależnione od struktury zespołów i ich kompozycji florystycznej. Zbiorowiska nieleśne, zgrupowane w osobnej grupie przy niskich wartościach osi drugiej (-0,024–0,018), różnią się zdecydowanie od zbiorowisk leśnych, które tworzą osobną grupę przy wysokich wartościach osi drugiej (0,36–0,5) (Ryc. 3.3).

4.2. Ocena stanu zachowania i walorów przyrodniczych zbiorowisk roślinnych w dolinie Czarnej

W ocenie walorów przyrodniczych zbiorowisk roślinnych stwierdzono, że w dolinie Czarnej, dużo większy obszar zajmują zbiorowiska nieleśne (70%) niż zbiorowiska leśne (12,5%). Wśród zbiorowisk leśnych zidentyfikowano dwa typy zbiorowisk zastępczych (antropogenicznych) na siedliskach grądowych z kręgu *Tilio-Carpinetum*. Są to: młodniki sosnowe *Pinus-Oxalis* (8%) i leśne zbiorowiska zastępcze z panującą brzozą *Betula-Stellaria* (2%) oraz spontaniczne zadrzewienia i zakrzewienia śródpolne (2,5%).

Zbiorowiska nieleśne na tym obszarze ukształtowały się głównie po wylesieniach dokonanych w przeszłości w dolinie Czarnej. Obecnie występują one jako trwałe użytki zielone, tj. ekstensywnie użytkowane jednokośne i nienawożone, zmiennowilgotne łąki trzęślicowe (14%), zdominowane przez *Molinia caerulea*, występujące na glebach mineralnych, w pośredniej strefie oddziaływania planowanej inwestycji, po drugiej stronie koryta rzeki. W bezpośredniej strefie oddziaływania planowanej inwestycji, inne zbiorowiska nieleśne to obecnie porzucone wilgotne łąki, które w procesie sukcesji wtórnej przekształciły się w ziołorośla połąkowe *Lysimachio vulgaris-Filipenduletum ulmariae* (8%) lub zarosły trzciną pospolitą kształtując zbiorowiska *Phragmitetum australis* (5%). Pozostały obszar, w bliskim otoczeniu cieku rzecznego rzeki Czarnej, zajmują turzycowiska: *Caricetum acutiformis* (25%) i *Caricetum appropinquatae* (7%). Najsilniej przekształcone antropogenicznie tereny w dolinie Czarnej to obszary zabudowań ludzkich, które zostały opanowane przez zbiorowiska synantropijne z roślinnością ruderalną (17%) oraz towarzyszące im grunty zagospodarowane rolniczo, pola uprawne z żytem (8,8%) i nieużytki (1,2%).

Dokonana ocena walorów przyrodniczych w dolinie Czarnej wskazuje na obecność zbiorowisk na siedliskach hydrogenicznych w randze obiektów od dużych (klasa VII), umiarkowanie dużych (klasa VI) i średnich walorów przyrodniczych (V) do małych walorów (klasa II), które określono dla zbiorowisk leśnych na siedliskach świeżych (Tab. 3.1). Duże walory przyrodnicze (klasa VII) stwierdzono dla szuwaru turzycowego *Caricetum appropinquatae*, który na badanym obszarze zajmuje siedliska mokre, okresowo zalewane, w bliskim sąsiedztwie czynnego rowu melioracyjnego. Jest to cenne zbiorowisko turzycowe z nawiązaniami do torfowisk przejściowych, czego potwierdzeniem jest obecność stanowiska bobrka trójlistkowego *Menyanthes trifoliata*, gatunku charakterystycznego dla emersyjnych darniowych torfowisk przejściowych klasy *Scheuchzerio-Caricetea nigrae* (Nordh. 1937) R.Tx. 1937.

Tabela 3.1. Waloryzacja przyrodnicza zbiorowisk roślinnych w dolinie Czarnej

Zbiorowiska roślinne	Klasa waloryzacyjna		Określenie walorów przyrodniczych	Średni wskaźnik waloryzacji
Caricetum appropinquatae	VII	C	Duże walory przyrodnicze	3,65
Lysimachio-Filipenduletum	VI	B	Umiarkowanie duże walory	3,14
Phragmitetum australis	VI	B	Umiarkowanie duże walory	3,14
Molinietum caeruleae	VI	B	Umiarkowanie duże walory	3,14
Caricetum acutiformis	V	B	Średnio umiarkowane walory	2,87
Leśne zbiorowiska zastępcze na siedlisku grądu *Tilio-Carpinetum*	II	A	Średnio małe walory przyrodnicze	1,73
Młodniki sosnowe na siedlisku grądu *Tilio-Carpinetum*	II	A	Średnio małe walory przyrodnicze	1,5

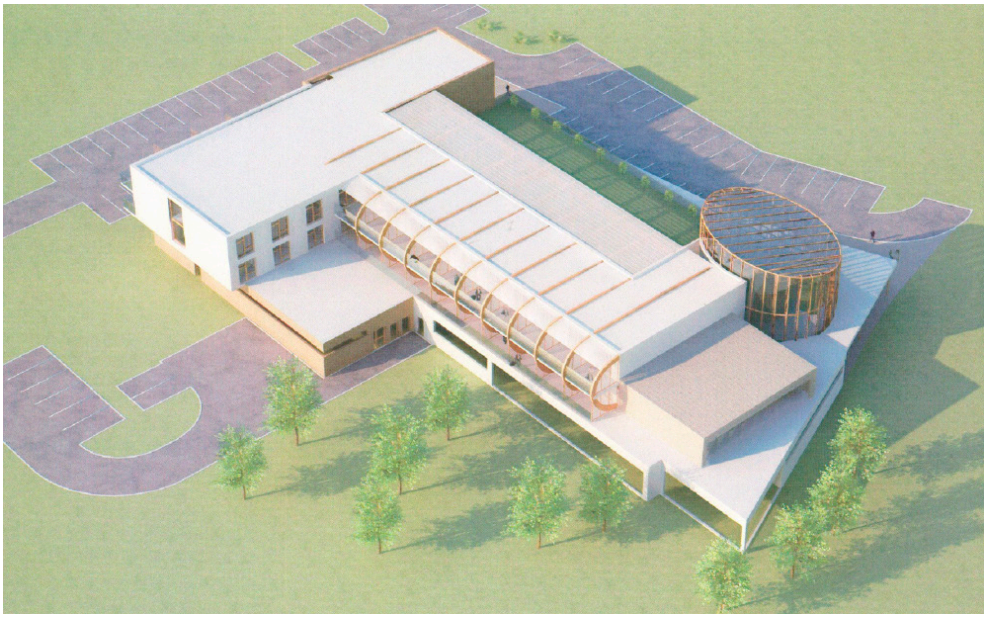
Źródło: opracowano za Oświtem 2000.

Umiarkowanie duże walory przyrodnicze (klasa VI) stwierdzono dla zbiorowiska z Załącznika I Dyrektywy Rady 92/43/EWG – łąk trzęślicowych (kod 6410 – *Molinietum caeruleae* W. Koch 1926), które jest chronione programem Natura 2000. Ponadto, umiarkowanie duże walory przyrodnicze (klasa VI) stwierdzono dla ziołorośli połąkowych *Lysimachio vulgaris-Filipenduletum ulmariae* i szuwarów trzcinowych *Phragmitetum australis*, poprzez obecność w ich składzie gatunków charakterystycznych klasy *Phragmitetea* i rzędu *Molinietalia*, które osiągają wysokie wartości wskaźników waloryzacji. Średnio umiarkowanie walory przyrodnicze (klasa V) określono dla szuwarów wielkoturzycowych *Caricetum acutiformis*, które

zajmują siedliska zarówno wilgotne i okresowo zalewane, jak i wilgotne i okresowo podsychające, zasiedlając zmeliorowane utwory mineralno-organiczne. Średnio małe walory przyrodnicze (klasa II) określono dla antropogenicznie ukształtowanych, sztucznych zbiorowisk zastępczych: młodników (*Pinus-Oxalis*) i drągowin (*Betula-Stellaria*) na siedliskach grądowych, stanowiących strefę przejścia z szuwarów wielkoturzycowych *Caricetum acutiformis* (Ryc. 3.1, Tab. 3.1).

5. Dyskusja – ocena oddziaływania planowanej inwestycji

Planowana inwestycja kompleksu restauracyjno-hotelowo-konferencyjnego na obszarze 1,74 ha, w bezpośrednim sąsiedztwie doliny rzeki Czarnej, obejmuje budowę zespołu budynków wraz niezbędną infrastrukturą techniczną o łącznej powierzchni 1,531 ha oraz dróg o powierzchni 0,205 ha (Ryc. 3.4).



Rycina 3.4. Koncepcja urbanistyczna przestrzennego zagospodarowania doliny Czarnej w miejscowości Katrynka

Źródło: Zabagło 2011.

Są to budynki: konferencyjny, restauracyjny i pensjonat (80 miejsc noclegowych), a także obiekty służące turystyce (akwen wodny, altanki, urządzenia małej architektury, place zabaw, miejsce na ognisko i grill, boisko sportowe, kort teniso-

wy, kort do minigolfa wraz z 93 stanowiskami miejsc parkingowych) na działkach o numerach ewidencyjnych: 73/2, 73/3, 73/4, 73/5, oraz zjazdy z dróg będące własnością gminy, o numerach ewidencyjnych: 65/1, 65/2. W ocenie stwierdzono bezpośredni i negatywny wpływ oddziaływania planowanej inwestycji na zbiorowiska roślinne doliny Czarnej. Decyduje o tym obecność nieleśnych zbiorowisk roślinnych na siedliskach hydrogenicznych o dużych i umiarkowanie dużych walorach przyrodniczych.

Wszystkie prace budowlane na terenie planowanej inwestycji przyczynią się do zmiany warunków hydrologicznych i zniszczenia zbiorowisk roślinnych w dolinie Czarnej, w tym łąk trzęślicowych (kod 6410 – zbiorowiska naturowego), po drugiej stronie koryta rzeki, poprzez zmiany reżimu hydrologicznego w całej zlewni. Planowana inwestycja istotnie wpłynie na przemiany szaty roślinnej w dolinie Czarnej poprzez zmiany w sposobie użytkowania łąk kośnych i przesuszenie siedlisk mokradłowych (Bendix, Hupp 2000; Ahearn i in. 2005; Newbold 2005; Nilsson i in. 2005).

Prace budowlane, niwelujące tereny mokre i wilgotne, spowodują przesuszenie siedlisk mokradłowych oraz uruchomienie procesów sukcesji wtórnej i zwiększanie się udziału spontanicznych śródpolnych zakrzewień i zadrzewień, przy jednoczesnym zmniejszaniu się użytków zielonych (Bruland, Richardson 2009; Rodriguez-Iturbe i in. 2009). Będą one efektem niekorzystnych warunków hydrologicznych, a ich skutkiem, w procesie sukcesji wtórnej, będzie stopniowe przekształcenie zbiorowisk szuwarowych, turzycowych i łąkowych na siedliskach mokradłowych w zbiorowiska zaroślowe, a następnie w zbiorowiska leśne (Haynes 2004, Łaska 2009, 2012, 2015). Negatywna ocena oddziaływania na środowisko planowanej inwestycji wskazuje, że jest to przedsięwzięcie, które może potencjalnie znacząco zmienić środowisko przyrodnicze doliny Czarnej (Dz. U. 2010, Nr 213, poz. 1397).

Podziękowania

Badania sfinansowano ze środków na naukę MNiSW w ramach pracy Nr S/WBiIŚ/5/2016.

Literatura

Ahearn D. S., Sheibley R. W., Dahlgren R. A., Anderson M., Johnson J., Tate K. W. 2005. Land use and land cover influence on water quality in the last free-flowing river draining the western Sierra Nevada, California. J. Hydrol., 313: 234–247.

Bendix J., Hupp C. R. 2000. Hydrological and geomorphological impacts on riparian plant communities. Hydrol. Process, 14: 2977–2990.

Bruland G. L., Richardson C. J. 2009. Hydrologic, edaphic, and vegetative responses to microtopographic reestablishment in a restored wetland. Restor. Ecol., 13: 515–523.

Clausen J., Guillard C. K., Sigmund C. M., Dors K. M. 2000. Water quality changes from riparian buffer restoration in Connecticut. J. Environ. Qual., 29: 1751–1761.

Collinge S. K. 2009. Ecology of Fragmented Landscapes. Johns Hopkins University Press, Maryland, USA.

Cullum R. F., Knight S. S., Cooper C. M., Smith S. 2006. Combined effects of best management practices on water quality in oxbow lakes from agricultural watersheds. Soil Till. Res., 90: 212–221.

Dembek W. 2002. Problemy ochrony i restytucji mokradeł w Polsce. Inżynieria Ekologiczna – Ekoinżynieria dla Ekorozwoju, 6: 65–68.

Dembek W., Grzyb M., Mikułowski M. 2002. Łąki i lasy w dolinach – nowe zagrożenia i szanse. Post. Nauk Rol., 3: 87–119.

Duffy W. G., Kahara S. N. 2011. Wetland ecosystem services in California's Central Valley and implications for the Wetland Reserve Program. Ecol. Appl., 21: 18–30.

Faulkner S., Barrow W. Jr., Keeland B., Walls S., Telesco D. 2011. Effects of conservation practices on wetland ecosystem services in the Mississippi Alluvial Valley. Ecol. Appl., 21: 31–48.

Haynes R. J. 2004. The development of bottomland forest restoration in the lower Mississippi Alluvial Valley. Restor. Ecol., 22: 170–182.

Henry C. P., Amoros C., Roset N. 2002. Restoration ecology of riverine wetlands: a 5-year post-operation survey on the Rhone River, France. Ecol. Eng., 18: 543–554.

King S. L., Twedt D. J., Wilson R. R. 2006. Role of the Wetland Reserve Program in conservation efforts in the Mississippi River Alluvial Valley. Wildlife Soc. B, 34: 914–920.

Kotowski W. 2002. Wartości przyrodnicze fitocenoz siedlisk rolniczych w dolinach rzecznych. [W:] Dembek W. (red.), Aktualne problemy ochrony mokradeł: walory przyrodnicze mokradeł a ich rolnicze użytkowanie. IMUZ, Falenty, 43–61.

Kovach L. W. 1986–1993. MVSP Plus, version 3.2. Users' Manual. Kovach Computing Services Pentraeth, Wales UK.

Kozłowska T. 2005. Zmiany zbiorowisk łąkowych na tle różnicowania się warunków siedliskowych w charakterystycznych obszarach dolin rzecznych Polski Centralnej. IMUZ, Falenty, 7–170.

Kryszak A., Kryszak J. 2007. Użytkowanie a walory przyrodnicze zbiorowisk łąkowych. Fr. Agron., 3: 258–267.

Łaska G. 2006. Tendencje dynamiczne zbiorowisk zastępczych w Puszczy Knyszyńskiej. Bogucki Wyd. Nauk., Białystok–Poznań.

Łaska G. 2008. Plant communities in wetland habitats in the Knyszyńska Forest – present state and anthropogenic transformations in the GIS approach. Pol. J. Environ. Stud., 15: 207–214.

Łaska G. 2009. Zbiorowiska roślinne siedlisk mokradłowych w Dolinie Płoski – ocena aktualnego stanu w zależności od różnych form użytkowania. Woda Środ. Obsz. Wiej., 4(28): 141–162.
Łaska G. 2011. "Natura 2000" ecological network in the aspect of sustainable development. Ecol. Questions, 15: 5–21. DOI: 10.2478/v10090-011-0030–7.
Łaska G. 2012. Różnorodność i walory przyrodnicze zbiorowisk mokradłowych w dolinie Białej, w centrum Białegostoku. Inżynieria Ekol., 29: 87–98.
Łaska G. 2015. Numerical and digital methods in analysis of space-time changes and renewal of vegetation cover resources in the Czarna River Valley. J. Ecol. Eng., 16: 117–125.
Matuszkiewicz W. 2001. Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski. PWN Warszawa.
Martin-Carrasco F., Garrote L., Iglesias A., Mediero L. 2013. Diagnosing cause of water scarcity in complex water resources systems and identifying risk management actions. Water Resour. Manag., 27: 1693–1705.
Mirek Z., Piękoś-Mirkowa H., Zając A., Zając M. 2002. Flowering Plants and Pteridophytes of Poland. A Checklist. Polish Academy of Sciences, Kraków.
Newbold S. C. 2005. A combined hydrologic simulation and landscape design model to prioritize sites for wetlands restoration. Environ. Model. Assess., 10: 251–263.
Nilsson C., Reidy C. A., Dynesius M., Revenga C. 2005. Fragmentation and flow regulation of the world's large river systems. Science, 308: 405–408.
Ochyra R., Żarnowiec J., Bednarek-Ochyra H. 2003. Cenzus catalogue of Polish mosses. Polish Academy of Sciences, Kraków.
Oświt J. 2000. Metoda przyrodniczej waloryzacji mokradeł i wyniki jej zastosowania na wybranych obiektach. ImiUZ, Falenty, 3–35.
Piórkowski H. 2002. Kształtowanie szaty roślinnej, warunków siedliskowych i struktury przestrzennej krajobrazu doliny dolnej Pilicy pod wpływem antropopresji. [W:] Dembek W. (red.), Aktualne problemy ochrony mokradeł: walory przyrodnicze mokradeł a ich rolnicze użytkowanie. IMUZ, Falenty, 12–42.
Rodriguez-Iturbe I., Muneepeerakul R., Bertuzzo E., Levin S. A., Rinaldo A. 2009. River networks as ecological corridors: A complex systems perspective for integrating hydrologic, geomorphologic, and ecologic dynamics. Water Resour. Res., 45: 1–22.
Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 października 2014 roku w sprawie ochrony gatunkowej roślin. Dz. U. 2014, poz. 1409.
Rozporządzenie Rady Ministrów z dnia 9 listopada 2010 roku w sprawie przedsięwzięć mogących znacząco oddziaływać na środowisko. Dz. U. 2010, Nr 213 poz. 1397.
Zabagło Z. 2011. W. Koncepcja urbanistyczno-architektoniczna zespołu restauracyjno-hotelowo-konferencyjnego z zapleczem w Katrynce, gmina Wasilków. Białystok.
www.geoportal.gov.pl
www.natura2000. gdos.gov.pl

4 Wymowa ekologiczna szczątków mchów w późnoglacjalnych i holoceńskich osadach torfowych północno-wschodniej Polski

Danuta **Drzymulska**

Uniwersytet Białymstoku
Instytut Biologii, Zakład Paleobotaniki

ul. K. Ciołkowskiego 1J, 15–245 Białystok
e-mail: drzym@uwb.edu.pl

Streszczenie: Liczne mchy brunatne oraz wszystkie torfowce należą do ważnych roślin torfotwórczych, stanowiących istotny, a niekiedy dominujący składnik zbiorowisk roślinnych występujących na podłożu torfowym. Większość mchów brunatnych spotykanych jest na torfowiskach niskich bądź przejściowych. Mniej licznie reprezentowana jest grupa mchów związanych z torfowiskami wysokimi, zasilanymi wyłącznie wodami opadowymi. Odwrotnie sytuacja przedstawia się jeżeli chodzi o mchy torfowce, które związane są głównie z torfowiami wysokimi. Dowodem na występowanie w przeszłości mchów na danym terenie, są szczątki identyfikowane w torfie. Rozpoznanie pozostałości (liści, gałązek, łodyżek) konkretnych taksonów mchów, daje podstawę do interpretacji warunków ekologicznych występujących na danym terenie w przeszłości, jak choćby w przypadku *Sphagnum magellanicum* Brid., *Spagnum rubellum* Wils., czy też *Sphagnum fuscum* (Schimp.) Klinggr., związanych z suchą powierzchnią torfowiska, czy też *Sphagnum fallax* (Klinggr.) Klinggr. – uważanego za wskaźnik warunków bardziej wilgotnych. Wymagania wilgotnościowe mchów zostały ponadto określone przy pomocy ekologicznych liczb wskaźnikowych, stworzonych na wzór liczb ustalonych dla współczesnych gatunków roślin. Niektóre mchy można także uważać za identyfikatory trofii, jak np. torfowce z sekcji *Subsecunda*, wskazujące na warunki mezotroficzne na danym siedlisku, czy gatunek *Polytrichym strictum* Brid. – typowy dla warunków oligotroficznych.

Słowa kluczowe: torf, mchy torfotwórcze, makroszczątki roślinne, warunki troficzne, wskaźnikowe liczby wilgotnościowe.

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 64-74

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

Torfowiska to miejsca bytowania wielu grup roślin. Jedną z najczęściej obecnych i jednocześnie posiadających bardzo duże właściwości torfotwórcze, są mchy (w rozumieniu Szweykowskiej i Szweykowskiego (2004), chodzi o klasę Bryopsida). Przy tym wkład tych roślin zarodnikowych w powstawanie masy torfowej nie jest ograniczony ze względu na brak korzeni – to obumierające stopniowo od dołu łodyżki przyczyniają się do sedentacji materii organicznej (Tobolski 2003). Wśród mchów wybitną rolę torfotwórczą należy przypisać torfowcom (Spagnidae) i mchom właściwym (liściastym) (Bryidae). Jednak także płonniki (Polytrichidae) spotykane są w torfie. Wśród paleobotaników te dwie ostatnie grupy mchów określane są wspólnym mianem: mchy brunatne/Bryales (Drzymulska 2006; Lamentowicz i in. 2007; Gałka, Sznel 2013; Kupryjanowicz, Drzymulska 2015).

Mchy brunatne występują na urozmaiconych siedliskach nie tylko mokradłowych, ale również suchych. Natomiast torfowce, grupa licząca zaledwie ok. 200 gatunków, w całości są związane z obszarami torfowiskowymi. Przy czym, w przeciwieństwie do Bryales – zasiedlających głównie torfowiska niskie, gdzie tworzą zbiorowiska mszyste zwane mechowiskami, torfowce spotykamy przede wszystkim na torfowiskach wysokich (mszary) i przejściowych. Specyfiką torfowisk jest to, że występowanie w danym odcinku czasu pewnych taksonów roślinnych, zatem i mchów, zostaje zapisane w osadzie. Jest to możliwe dzięki dużej wilgotności podłoża, niedużej zawartości tlenu w wodzie, jej małej ruchliwości oraz słabej aktywności mikroorganizmów glebowych (Oświt 1977). Właśnie połączenie tych czynników powoduje, że rozkład roślin postępuje wolno i nie dochodzi do całkowitej degradacji budowy anatomicznej. Te bardzo specyficzne cechy torfu umożliwiają prowadzenie analiz roślinnych szczątków makroskopowych w nim zawartych. Jasnowski (1957) już w latach pięćdziesiątych prowadził badania nad florą mchów występujących w torfach plejstoceńskich i holoceńskich pobranych z kilku obszarów Polski. Prace badawcze nad warstwami mszystymi torfu wykonywał także Wąs (1965). Ważny rezultat tych badań stanowiło sklasyfikowanie torfów z uwzględnieniem ich struktury socjologicznej i genezy. Celem niniejszej pracy jest przybliżenie możliwości, jakie stwarza analiza makroszczątkowa w kontekście rekonstrukcji paleośrodowiska, w oparciu o rozpoznanie w torfie szczątków różnorodnych mchów.

2. Metoda analizy roślinnych szczątków makroskopowych

Podstawą, na jakiej opiera się analiza makroszczątków roślinnych zawartych w torfie, jest dostęp do osadu o niezaburzonej strukturze. Osad taki uzyskuje się dzięki świdrom torfowym, najczęściej typu Instorf (patrz Tobolski 2000). Uzyskany rdzeń torfowy jest następnie dzielony na odcinki odpowiedniej długości, z których pobierany jest osad do analizy makroszczątków roślinnych. Umieszczony w wodzie destylowanej materiał poddaje się działaniu 10% roztworu KOH, co umożliwia dokładną dyspersję grudek torfu. Tak przygotowana zawiesina poddawana jest obróbce cieplnej, a po ostudzeniu – przemywana pod strumieniem wody bieżącej, na sicie o gęstości 0,2 mm. Zeszlamowana, pozbawiona humusu pozostałość torfu jest umieszczana na szalce Petriego. Z pozostałości torfowej wykonywane są preparaty mikroskopowe do analizy roślinnych szczątków wegetatywnych, w tym szczątków mchów. Spośród pięciu grup znalezisk roślinnych obecnych w osadach torfowych rozróżnionych przez Tobolskiego (2000), te, będące pozostałościami mchów, należą do grupy pierwszej: są to liście, oraz trzeciej: są to gałązki i łodyżki.

Identyfikacja mchów torfowców nie nastręcza trudności. Wynika to z ich niezwykle specyficznych, trudnych do pominięcia cech budowy anatomicznej: układu komórek wodonośnych i chlorofilowych tak w liściach gałązkowych, jak i łodygowych. Natomiast identyfikacja taksonomiczna do gatunku, lub chociażby sekcji, jest bardziej skomplikowana. Tutaj kluczowe jest położenie i wielkość porów w komórkach wodonośnych oraz kształt i wielkość samych liści (patrz Tobolski 2000, 2003). W praktyce rozpoznawane są głównie liście gałązkowe; łodygowe bowiem, choć posiadają więcej cech diagnostycznych, pojawiają się w osadzie sporadycznie i zazwyczaj nie są kompletne. Należy zaznaczyć, że brak liści łodygowych w torfie szczególnie niekorzystnie wpływa na możliwość identyfikacji przedstawicieli sekcji *Acutifolia*. Niektóre komórki wodonośne posiadają bowiem charakterystyczne „żeberka" dzielące je na dwie lub trzy części. Właśnie liczba i ustawienie tych „żeberek" w komórkach nosi znamiona cech gatunkowych (Frahm, Frey 1987). Jeżeli chodzi o gałązki i łodyżki torfowców, to jedynie przedstawiciele sekcji *Palustria* posiadają charakterystyczne spiralne zgrubienia ścian komórek epidermy (patrz Tobolski 2000), dlatego też identyfikacja do sekcji jest tu możliwa. W przypadku innych grup torfowców, rozpoznanie torfowców w oparciu o same gałązki i łodyżki, jest dość mocno utrudnione.

Odnośnie tzw. Bryales, ogólne rozpoznawanie szczątków tej bogatej grupy mchów również nie budzi wątpliwości. Natomiast możliwości określenia rodzaju, a tym bardziej gatunku danej rośliny są często ograniczone, szczególnie gdy stan zachowania liści jest niezadowalający (wówczas liść może zostać pozbawiony cech

charakterystycznych, np. tzw. uszek). Wśród ogólnej masy szczątków mchów brunatnych występują jednak i takie, które można zidentyfikować nawet pomimo znacznych uszkodzeń liści. Przykładem są pochwy liściowe *Polytrichum strictum* Brid., które posiadają charakterystyczny pomarańczowy kolor (Grosse-Brauckmann 1986). Niemniej jednak, identyfikacja rodzajowa lub gatunkowa mchów brunatnych na podstawie wyłącznie łodyżek i gałązek jest praktycznie niemożliwa.

3. Szczątki mchów jako źródło wiedzy o paleośrodowisku

Badania paleobotaniczne osadów torfowych zdeponowanych w ciągu ostatnich około 12 000 lat, czyli w późnym glacjale i holocenie, jakie prowadzono na obszarze Polski północno-wschodniej (głównie w Puszczy Knyszyńskiej i Wigierskim Parku Narodowym), często oparte były na identyfikacji szczątków mchów. Na tej podstawie dokonywano rekonstrukcji warunków środowiskowych, w jakich rozwijało się dane torfowisko w przeszłości.

Spośród mchów, mchy brunatne są bardziej zróżnicowaną i bogatszą grupą roślin, natomiast torfowce cechuje wyższy poziom wyspecjalizowania. Przy czym, u tych ostatnich idzie to w parze z prostą konstrukcją morfologiczno-anatomiczną (najmniej zaawansowana budowa tkankowa spośród Bryopsida). W efekcie, torfowce osiągnęły duże znaczenie przyrodnicze, a wąska skala ekologiczna znalazła przełożenie w masowym występowaniu tych mchów, szczególnie w zasięgu klimatu borealnego i subarktycznego.

3.1. Mchy a warunki troficzne

Siedliska ombrotroficzne, czyli typowe dla torfowisk wysokich, to miejsca bytowania większości mchów torfowców oraz w mniejszym stopniu – torfowiskowych mchów brunatnych. Stałym elementem takich ekosystemów są: *Sphagnum magellanicum* Brid. (sekcja *Palustria*), *Sph. fallax* (Klinggr.) Klinggr. – sekcja *Cuspidata* (Ryc. 4.1), oraz torfowce z sekcji *Acutifolia*, np. *Sph. rubellum* Wils. i *Sph. fuscum* (Schimp.) Klinggr., a także: *Polytrichum strictum* i *Aulacomnium palustre* (Hedw.) Schwägr. Gatunki te stanowiły składnik zbiorowisk subfosylnych pojawiających się w końcowej fazie (okres subatlantycki) rozwoju torfowiska wysokiego Kładkowe Bagno w Puszczy Knyszyńskiej (Drzymulska 2004). Dwa pierwsze z tych gatunków identyfikowane były także jako ważny element fitocenoz subfosylnych

porastających strefy przybrzeżne jezior humusowych Wigierskiego Parku Narodowego (Drzymulska, Zieliński 2013).

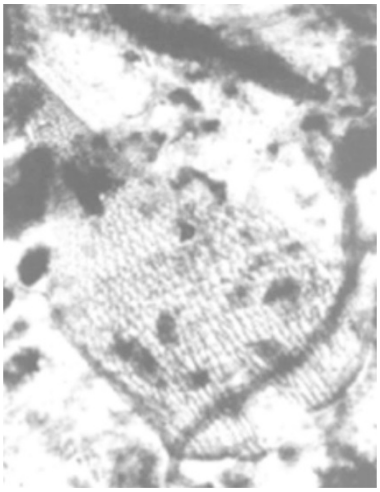
Z siedliskami minerotroficznymi związany jest *Sphagnum teres* (Schimp.) Ångstr. (Ryc. 4.2) z sekcji Squarrosa. Został on rozpoznany w złożu torfowym Taboły (Puszcza Knyszyńska), gdzie pojawiał się na przełomie okresu borealnego i atlantyckiego (Drzymulska 2004). Preferencje tego gatunku wskazują na torfowiska minerotroficzne o średniej zawartości substancji odżywczych, z tendencją w kierunku torfowisk eutroficznych (Dierssen 1982; Grosse-Brauckmann 1986). Wraz z bobrkiem trójlistkowym *Menyanthes trifoliata* L., tworzył tam zbiorowisko *Menyantho trifoliatae-Sphagnetum teretis* nieznane obecnie na obszarze Europy Środkowej.

Rycina 4.1. *Sphagnum fallax* – liść gałązkowy, ×74 (Fot. D. Drzymulska)

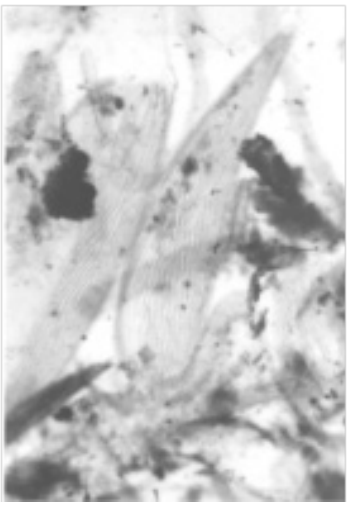
Natomiast jego współczesne odpowiedniki występują w Europie Północno-Zachodniej pod nazwą *Menyantho trifoliatae-Sphagnetum teretis* Warén 1926 (Dierssen 1982) oraz w Zachodniej Syberii, gdzie opisano fitocenozę *Menyanthes trifoliata-Sphagnum teres* (Liss, Bjerjesina 1981).

Interesującymi znaleziskami są zawsze szczątki torfowców z sekcji *Subsecunda*, jak *Sphagnum* cf. *contortum* (Ryc. 4.3) – rozpoznany w stropie torfowiska Taboły (okres subatlantycki). Obecność tych torfowców wskazuje na siedliska minerotroficzne, a fitocenozy, których są elementami, pozostają w kręgu klasy *Scheuchzerio-Caricetea nigrae*.

Przy czym należy zauważyć, że są wśród przedstawicieli tej sekcji gatunki ekspansywne, jak *Sphagnum subsecundum* Nees, które aktywnie zakwaszają podłoże torując niejako miejsce innym gatunkom torfowców (Rydin, Jeglum 2008).



Rycina 4.2. *Sphagnum teres* – liść gałązkowy, ×74 (Fot. D. Drzymulska)



Rycina 4.3. *Sphagnum* cf. *contortum* – liść gałązkowy, ×74 (Fot. D. Drzymulska)

Rycina 4.4. *Scorpidium scorpioides*, ×74 (Fot. D. Drzymulska)

Siedliska żyzne to miejsce występowania mchów brunatnych, jak: *Calliergon giganteum* (Schimp.) Kindb., *Meesea triquetra* Ångstr., czy też *Scorpidium scorpioides* (Hedw.) Limpr. (Ryc. 4.4). Wszystkie zostały zidentyfikowane w Tabołach, w starszej fazie rozwoju torfowiska, tzn. w późnym glacjale i w okresie preborealnym. Ostatni z wymienionych gatunków, obecnie relikt glacjalny, jest także gatunkiem kalcifilnym. Jego występowanie w starszym dryasie, związane z obecnością wapnia w podłożu, należy tłumaczyć wynikającym z powolnego zanikania zmarzliny, swobodnym krążeniem wód gruntowych, które nanosiły wapń z ługowanych utworów lodowcowych (Drzymulska 2004).

3.2. Mchy a warunki wilgotnościowe

Informacji o dawnych warunkach wilgotnościowych torfowiska dostarczają niektóre gatunki torfowców. *Sphagnum fallax* związany jest z miejscami bardziej, natomiast *Sph. magellanicum* i *Sph. fuscum* – z obszarami mniej wilgotnymi. To samo dotyczy płonnika *Polytrichum strictum*. Natomiast mech brunatny *Pleurozium schreberi* (Willd. ex Brid.) Mitt. uważany jest za wskaźnik miejsc suchych (tzn. suchych w rozumieniu warunków torfowiskowych).

W oparciu o ekologiczne liczby wskaźnikowe, a dokładniej liczby wilgotnościowe ustalone dla współczesnych gatunków roślin (Ellenberg 1974; Ellenberg i in. 1992; Zarzycki i in. 2002), podjęta została próba stworzenia takowych dla taksonów subfosylnych (taksony owe mają różnorodną rangę: sekcji, gatunku, rodzaju, rodziny), w tym także mchów. Po raz pierwszy zestaw wskaźnikowych liczb wilgotnościowych (w skali 1–10) dla taksonów torfotwórczych zaprezentowały Elina i Yurkovska (1992). Takie zestawienie podała także autorka niniejszej pracy (Drzymulska 2004) dla taksonów subfosylnych rozpoznanych w złożach torfowych Puszczy Knyszyńskiej. W przypadku taksonów w randze innej aniżeli gatunek, liczbę wskaźnikową ustalano jako wypadkową wartości opracowanych dla gatunków o zbliżonych wymaganiach wilgotnościowych. Do badan wykorzystano skalę 10-stopniową; w praktyce zastosowane wartości mieszczą się w zakresie od 5 do 10, bowiem wilgotność powierzchni torfowiska zawsze jest podwyższona w normalnych warunkach (Tab. 4.1).

Liczby wilgotnościowe dają możliwość prześledzenia zmian stopnia uwilgotnienia siedlisk w trakcie rozwoju torfowisk. Stosuje się tu tzw. indeks wilgotności (IW) zaproponowany w pracy Eliny i Yurkovskiej (1992). Sposób wyliczania tego parametru prezentuje tabela 4.2.

Tabela 4.1. Wskaźnikowe liczby wilgotnościowe dla subfosylnych taksonów mchów

Takson mchu	Wskaźnikowa liczba wilgotnościowa
Pleurozium schreberi	5
Sphagnum magellanicum	6
Sphagnum sec. Palustria	6
Sphagnum sec. Acutifolia	6
Polytrichum strictum	6
Polytrichum sp.	6
Sphagnum fallax	7
Sphagnum sec. Cuspidata	7
Sphagnum teres	7
Sphagnum sec. Squarrosa	7
Sphagnum sp.	7
Drepanocladus cf. *vernicosus*	7
Sphagnum sec. Subsecunda	8
Helodium lanatum	8
Meesea triquetra	8
Calliergon giganteum	8
Scorpidium scorpioides	8
Tomenthypnum nitens	8
Drepanocladus cf. aduncus	8
Drepanocladus sp.	8
Bryales	8

Tabela 4.2. Sposób ustalania wartości indeksu wilgotności (IW)

Przykładowy takson roślinny	Zawartość szczątków w warstwie [%]	Wskaźnikowa liczba wilgotnościowa	1 × 2
	1	2	
Meesea triquetra	40	8	320
Calliergon sp.	10	8	80
Sphagnum sp.	5	7	35
Nieoznaczone	45	–	–
Suma – szczątki oznaczone	*55*		*435*

435/55 = 7,91 ← Indeks wilgotności

Źródło: opracowano na podstawie: Elina i Yurkovska 1992.

Parametry liczbowe określające wilgotność siedlisk określano bazując na metodzie fitoindykacji Oświta (1992). Przyjęte wartości prezentuje Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Określenie wilgotności siedlisk na podstawie wartości indeksu wilgotności (IW)

Wartość IW	Stan uwilgotnienia siedliska
5–6	umiarkowanie wilgotne
6–7	wilgotne
7–8	mokre
8–10	bardzo mokre

W oparciu o parametry opisane powyżej, czyli wskaźnikowe liczby wilgotnościowe, indeks wilgotności oraz stan uwilgotnienia siedliska, określono warunki wilgotnościowe, w jakich występowały w przeszłości poszczególne podzespoły zespołu *Sphagnetum magellanici* zidentyfikowane na torfowisku Kładkowe Bagno w Puszczy Knyszyńskiej (Tab. 4.4).

Tabela 4.4. Zależność w występowaniu fitocenoz na poszczególnych typach siedlisk

Fitocenoza		Cecha siedliska			
		umiarkowanie wilgotne	wilgotne	mokre	bardzo mokre
Sphagnetum magellanici	*sphagnetosum fallacis*		100%	–	–
	typicum	28,5%	71,5%	–	–
	eriophoretosum	71,5%	28,5%	–	–
	pinetosum	100%		–	–

Powyższe zestawienie potwierdza powiązanie podzespołów z podłożem mniej wilgotnym (*Sphagnetum magellanici eriophoretosum* i *Sphagnetum magellanici pinetosum*) lub bardziej wilgotnym (*Sphagnetum magellanici sphagnetosum fallacis* i *Sphagnetum magellanici typicum*). Przy tym potwierdza się najbardziej wilgociolubny charakter tego z nich, w którym dominuje *Sphagnum fallax*.

Podziękowania

W rozdziale wykorzystano wyniki badań prowadzonych w ramach realizacji projektów badawczych: (1) KBN nr 3 P04C 066 24, 2003–2004, „Sukcesja roślinności na różniących się warunkami hydrologicznymi torfowiskach Puszczy Knyszyńskiej (Polska NE)" oraz (2) MNiSW nr N N305 085135, 2008–2001, „Historia jezior dystroficznych (sucharów) Wigierskiego Parku Narodowego w świetle holoceńskiej sukcesji ich roślinności".

Literatura

Dierssen K. 1982. Die wichtigsten Pflanzengesellschaften der Moore NW-Europas. Conservatoire et Jardin botaniques, Genève.

Drzymulska D. 2004. Późnoglacjalna i holoceńska historia roślinności wybranych torfowisk Puszczy Knyszyńskiej. Manuskrypt pracy doktorskiej. Uniwersytet w Białymstoku.

Drzymulska D. 2006. Subfossil plant communities in deposits from the Taboły, Kładkowe Bagno and Borki mires in the Puszcza Knyszyńska Forest, NE Poland. Acta Palaeobot., 46(2): 255–275.

Drzymulska D., Zieliński P. 2013. Developmental changes in the historical and present-day trophic status of brown water lakes. Are humic water bodies a uniform aquatic ecosystem? Wetlands, 33 (5): 909–919.

Elina G. A., Yurkovskaya T. K. 1992. Mietody opriedielenija paleogidrologiczeskogo reżima kak osnowa objektiwizacji priczin sukcesji rastitjelnosti bołot. Bot. Zhurn., 77, 7: 120–124.

Ellenberg H. 1974. Zeigerwerte der Gefässpflanzen Mitteleuropas. Scr. Geobot., 9, Göttingen.

Ellenberg H., Weber H. E., Düll R., Wirth V., Werner W., Paulissen D. 1992. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. Scr. Geobot., 18, Göttingen.

Frahm J. P., Frey W. 1987. Moosflora. Stuttgardt.

Gałka M., Sznel M. 2013. Late Glacial and Early Holocene development of lakes in northeastern Poland in view of plant macrofossil analyses. Quatern. Int., 292: 124–135.

Grosse-Brauckmann G. 1986. Analysis of vegetative plant macrofossils. [W:] Berglund B. E. (red.), Handbook of Holocene Palaeoecology and Palaeohydrology. John Wiley & Sons Ltd.: 591–618.

Jasnowski M. 1957. Flora mchów z czwartorzędowych osadów torfowisk reofilnych. Acta Soc. Bot. Pol., 3: 597–629.

Kupryjanowicz M., Drzymulska D. 2015. Evolution of a small Eemian lake in a unique location on a kame hill – Haćki site, NE Poland. Quatern. Int., 386: 203–207.

Lamentowicz M., Tobolski K., Mitchell E. A. D. 2007. Palaeoecological evidence for anthropogenic acidification of a kettle-hole peatland in northern Poland. The Holocene, 17.8: 1185–1196.

Liss O. L., Bjerjesina N. A. 1981. Bolota Sapadno-Sibirskoj ravniny. Isdatjelstvo Moskovskogo Universitjeta, Moskva.

Oświt J. 1977. Naturalne siedliska torfotwórcze jako podstawa wyróżniania jednostek przyrodniczych. Rocz. Nauk Roln. Seria F, 79: 29–50.

Oświt J. 1992. Identyfikacja warunków wilgotnościowych w siedliskach łąkowych za pomocą wskaźników roślinnych (metoda fitoindykacji). Biblioteczka Wiadomości IMUZ, 79: 39–67.

Rydin H., Jeglum J., 2008. The biology of peatlands. Oxford University Press, Oxford.

Szweykowska A., Szweykowski J. 2004. Botanika T. 2 Systematyka. PWN, Warszawa.

Tobolski K. 2000. Vademecum Geobotanicum. Przewodnik do oznaczania torfów i osadów jeziornych. PWN, Warszawa.

Tobolski K. 2003. Torfowiska na przykładzie Ziemi Świeckiej. Towarzystwo Przyjaciół Dolnej Wisły, Świecie.

Wąs S. 1965. Geneza, sukcesje i mechanizm rozwoju warstw mszystych torfu. Zeszyty Probl. Post. Nauk Roln., 57: 305–393.

Zarzycki K., Trzcińska-Tacik H., Różański W., Szeląg Z., Wołek J., Korzeniak U. 2002. Ecological indicator values of vascular plants of Poland. Ekologiczne liczby wskaźnikowe roślin naczyniowych Polski. Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN, Kraków.

5 Populacja sasanki otwartej *Pulsatilla patens* (L.) Mill. w Puszczy Białowieskiej i w Puszczy Knyszyńskiej – stan zachowania, zagrożenie i kierunki ochrony

Grażyna **Łaska** / Aneta **Sienkiewicz**

Politechnika Białostocka
Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska
Katedra Inżynierii Rolno-Spożywczej i Kształtowania Środowiska

ul. Wiejska 45A, 15–351 Białystok
e-mail: a.sienkiewicz@pb.edu.pl

Streszczenie: Celem pracy jest porównanie stanu zachowania i zagrożenia populacji sasanki otwartej *Pulsatilla patens* (L.) Mill. w Puszczy Białowieskiej (PB) i w Puszczy Knyszyńskiej (PK) oraz wskazanie kierunków i działań ochronnych dla zapewnienia gatunkowi dalszej egzystencji. Badania populacji w Puszczy Knyszyńskiej prowadzono w latach 2011–2012 na 33 stanowiskach, a w Puszczy Białowieskiej w 2015 roku na czterech stanowiskach, na terenie Białowieskiego Parku Narodowego (BPN). Miejsca występowania populacji określono na podstawie analizy materiałów źródłowych i danych literaturowych. W badaniach struktury ekologicznej określono rozmieszczenie i strukturę przestrzenną populacji, strukturę faz rozwojowych, a także strukturę wielkości osobników z uwzględnieniem wysokości i pokroju.

W populacji *P. patens* w PK stwierdzono 42 osobniki juwenilne, 676 osobników wegetatywnych i 125 osobników generatywnych, a w BPN występowanie tylko siedmiu osobników wegetatywnych. W populacji w PK odnotowano 200 pędów generatywnych, 3244 pędy wegetatywne i 1043 pędy juwenilne, a w BPN jedynie 43 pędy wegetatywne i sześć pędów juwenilnych. Najwięcej osobników sasanki otwartej w PK osiąga wysokość od 8 cm do 10 cm i wielkość przyziemnej rozety do 1 cm, natomiast w BPN dominują osobniki o wysokości od 12 cm do 14 cm i od 16 cm do 18 cm oraz wielkości przyziemnej rozety od 5 cm do 6 cm.

Populacja sasanki otwartej w BPN osiąga mniejszą liczebność w porównaniu z liczebnością populacji w PK. Badana populacja w PK występuje przy znacznym pokryciu warstwy zielnej, a w BPN charakteryzuje się znacznym rozproszeniem i niewielką liczebnością. W celu ochrony sasanki otwartej *Pulsatilla patens* (L.) Mill., w Puszczy Knyszyńskiej zaleca się usunięcie pokrywy przez silnie konkurencyjne gatunki zielne, a w Białowieskim Parku Narodowym – zabezpieczenie stanowisk występowania sasanki otwartej przed ich zniszczeniem.

Słowa kluczowe: północno-wschodnia Polska, gatunek chroniony, struktura ekologiczna populacji, status gatunku, zabiegi ochronne.

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 75-86

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

Sasanka otwarta *Pulsatilla patens* (L.) Mill. od 1958 roku podlega w Polsce ścisłej ochronie gatunkowej i wymaga ochrony czynnej (Dz. U. 2014, poz. 1409). Jest to gatunek o znaczeniu wspólnotowym (kod 1477), wymieniony w Załączniku II Dyrektywy Siedliskowej (92/43/EWG) oraz w Załączniku I Konwencji Berneńskiej, sklasyfikowany jako gatunek krytycznie zagrożony (E) na „Czerwonej liście roślin naczyniowych zagrożonych w Polsce" (Zarzycki, Szeląg 2006) oraz gatunek zagrożony (EN) w „Czerwonej księdze roślin" (Kaźmierczakowa i in. 2014). W ramach prowadzonego monitoringu odnotowuje się ciągły spadek liczby stanowisk *P. patens* i zmniejszanie się liczby jej osobników na stanowiskach (Monitoring GIOŚ 2010–2011).

Takson ten uznany jest za krytycznie zagrożony (CR) w Czechach (Holub, Procházka 2000), wymieniony na czerwonej liście oraz w czerwonych księgach Niemiec (Röder, Kiehl 2006), Szwecji (Gärdenfors 2000), Litwy, Łotwy, Obwodu Leningradzkiego Rosji (EUNIS 2005), Okręgu Kaliningradzkiego Federacji Rosyjskiej (Noskov 2000) i Słowacji (Průša i in. 2005). W Finlandii i Estonii populacje tego gatunku uznano za reliktowe (Rassi i in. 2001; Pilt, Kukk 2002). W Polsce wielu autorów wskazuje na różnorodne przyczyny zagrożenia sasanki otwartej (Wójtowicz 2000, 2004; Nowak, Spałek 2002; Kącki 2003; Mirek, Piękoś-Mirkowa 2008). Należą do nich głównie stałe zmniejszanie powierzchni leśnej i nasilanie się różnorodnych form presji antropogenicznej poprzez rolnicze, przemysłowe lub urbanistyczne wykorzystanie obszarów jej występowania. Zmniejszenie liczebności populacji jest również efektem oddziaływania niekorzystnych warunków klimatycznych (Chmura 2003) i dużej niestabilności warunków termicznych w okresie kwitnienia (Wójtowicz 2000), zgryzania kwiatów i pędów owocujących przez zwierzęta leśne, hybrydyzacji z innymi gatunkami należącymi do rodzaju *Pulsatilla* (Uotila 1996) oraz mniejszej produkcji nasion w wyniku ograniczenia aktywności owadów zapylających (Zych 2007). Fakt, że ponad 80% stanowisk zagrożonej wyginięciem populacji *P. patens* znajduje się w północno-wschodniej Polsce (Wójtowicz 2004), umożliwia podjęcie aktywnych działań zmierzających do opracowania skutecznych kierunków ochrony i zachowania jej dalszej egzystencji na tym terenie. Pozwala również określić stopień zagrożenia gatunku, co jest szczególnie ważne w przypadku małych populacji, w których spadek liczebności może doprowadzić z czasem do ich całkowitego zaniku. Celem pracy jest porównanie obecnego stanu zachowania i zagrożenia populacji sasanki otwartej *Pulsatilla patens* (L.) Mill.

w Puszczy Białowieskiej (PB) i w Puszczy Knyszyńskiej (PK) oraz wskazanie kierunków i działań ochronnych dla zapewnienia jej dalszej egzystencji.

2. Teren i obiekt badań

Badania populacji *P. patens* prowadzono w północno-wschodniej Polsce, na terenie sześciu Nadleśnictw w Puszczy Knyszyńskiej (Supraśl, Dojlidy, Knyszyn, Żednia, Waliły i Krynki) oraz w Obrębie Ochronnym Hwoźna, Obwodzie Ochronnym Zamosze, w okolicach wsi Stare Masiewo w Puszczy Białowieskiej. Są to tereny należące do sieci obszarów Natura 2000 jako SOO „Ostoja Knyszyńska" PLH200006 i OSO „Puszcza Knyszyńska" PLB200003 (Łaska 2009), a także SOO i OSO „Puszcza Białowieska" PLC200004 (www.natura2000.gdos.gov.pl). W zasięgu Puszczy Knyszyńskiej wyróżnia się rozległy kompleks leśny o powierzchni 1267,02 km^2, z którego 744,47 km^2 zajmuje Park Krajobrazowy Puszczy Knyszyńskiej, a pozostałą część, 522,55 km^2 stanowi strefa ochronna Parku (GUS 2014). Natomiast kompleks leśny Puszczy Białowieskiej zajmuje powierzchnię 1510 km^2, z czego na terenie Polski znajduje się 635 km^2, a w zasięgu PBN 105,2 km^2 (Tyszkiewicz, Łaska 2016).

Sasanka otwarta *Pulsatilla patens* (L.) Mill. (synonim: *Anemone patens* L.) jest byliną należącą do rodziny jaskrowatych (Ranunculaceae) o zasięgu cyrkumborealnym. Jest hemikryptofitem (Raunkiaer 1905) i rhizofitem (Łukaszewicz 1962) o wysokości 7–20 cm (w czasie owocowania do 40 cm), z pojedynczym dzwonkowatym kwiatem złożonym z 6 działek o średnicy do 6 cm i barwie od błękitnej do ciemnofioletowej. W PK i PB gatunek ten preferuje głównie siedliska subborealnego boru mieszanego *Serratulo-Piceetum typicum* Sokoł. 1968 (*Calamagrostio-Piceetum* Sokołowski 1968, *Serratulo-Pinetum* (W. Mat. 1981) J. Mat. 1988), o wystawie południowej, południowo-wschodniej i południowo-zachodniej. Występuje w miejscach prześwietlonych i słabo ocienionych, dlatego też *P. patens* notowana jest w Puszczy Knyszyńskiej przy głównych drogach utwardzonych, leśnych drogach dojazdowych i liniach oddziałowych, a w Puszczy Białowieskiej przy leśnej drodze dojazdowej i na otwartej przestrzeni pasa granicznego (Łaska, Sienkiewicz – dane niepubl.).

3. Materiały i metody badań

Badania terenowe oceny stanu zachowania populacji *P. patens* w PK prowadzono w latach 2011–2012 na 33 stanowiskach, a w PB w 2015 roku na czterech stanowiskach, na terenie Białowieskiego Parku Narodowego (BPN). Miejsca występowania badanych populacji w PK zlokalizowano na podstawie analizy materiałów źródłowych (G. Łaska oraz RDLP w Białymstoku), a w BPN – na podstawie danych literaturowych (Karczewska 2009). Prace terenowe obejmowały badania kartograficzne występowania taksonu z wykorzystaniem kartowania punktowego i lokalizacji techniką GPS. Stanowiska badawcze o łącznej powierzchni 2700 m^2 w PK i 5 m^2 w PB podzielono na mniejsze poletka podstawowe o powierzchni 1 m^2. W celu określenia struktury przestrzennej, na każdym poletku podstawowym skartowano rozmieszczenie osobników sasanki otwartej, z uwzględnieniem ich frekwencji i zagęszczenia. Frekwencję i zagęszczenie osobników określono na podstawie ich obecności i liczebności na poletkach. Na podstawie badań kartograficznych ustalono typ rozkładu przestrzennego populacji. W trakcie prac terenowych opisano także cechy charakteryzujące każdego osobnika. Na podstawie cech morfologiczno-rozwojowych, rozpoznano i odnotowano liczebność osobników w poszczególnych fazach rozwojowych (juwenilnej, wegetatywnej i generatywnej). W celu określenia struktury wielkości osobników w badanych populacjach, dokonano pomiaru wysokości osobników, średnicy przyziemnej rozety oraz liczby pędów. Oceny obecnego stanu zachowania sasanki otwartej dokonano na podstawie rozmieszczenia osobników i liczebności badanych populacji. Określenie struktury przestrzennej, struktury faz rozwojowych i struktury wielkości osobników dało podstawy do oceny stanu zagrożenia populacji *P. patens* na terenie PK i PB.

4. Wyniki badań i dyskusja

W badaniach struktury ekologicznej określono rozmieszczenie i strukturę przestrzenną populacji, strukturę faz rozwojowych, strukturę wielkości osobników z uwzględnieniem wysokości i pokroju.

4.1. Liczebność i struktura przestrzenna populacji

W 33 populacjach sasanki otwartej w PK stwierdzono 843 osobniki, a w czterech populacjach w PB jedynie siedem osobników. Badania wykazały, że struktura przestrzenna tych populacji ma charakter głównie skupiskowy, co potwierdzają

średnie wartości współczynników dyspersji (d=1,24–1,37). Częstość występowania osobników w populacjach jest podobna (35,3–39,6%). Średnie zagęszczenie osobników wynosi od 0,42 osob./1 m^2 w PB do 0,61 osob./1 m^2 w PK. Zagęszczenie rzeczywiste w populacjach kształtuje się na poziomie od 1,50 osob./1 m^2 w PB – do 1,60 osob./1 m^2 w PK. Większą maksymalną liczbę osobników odnotowano na terenie PK (3 osob./1 m^2) niż w PB (2 osob./1 m^2) (Ryc. 5.1).

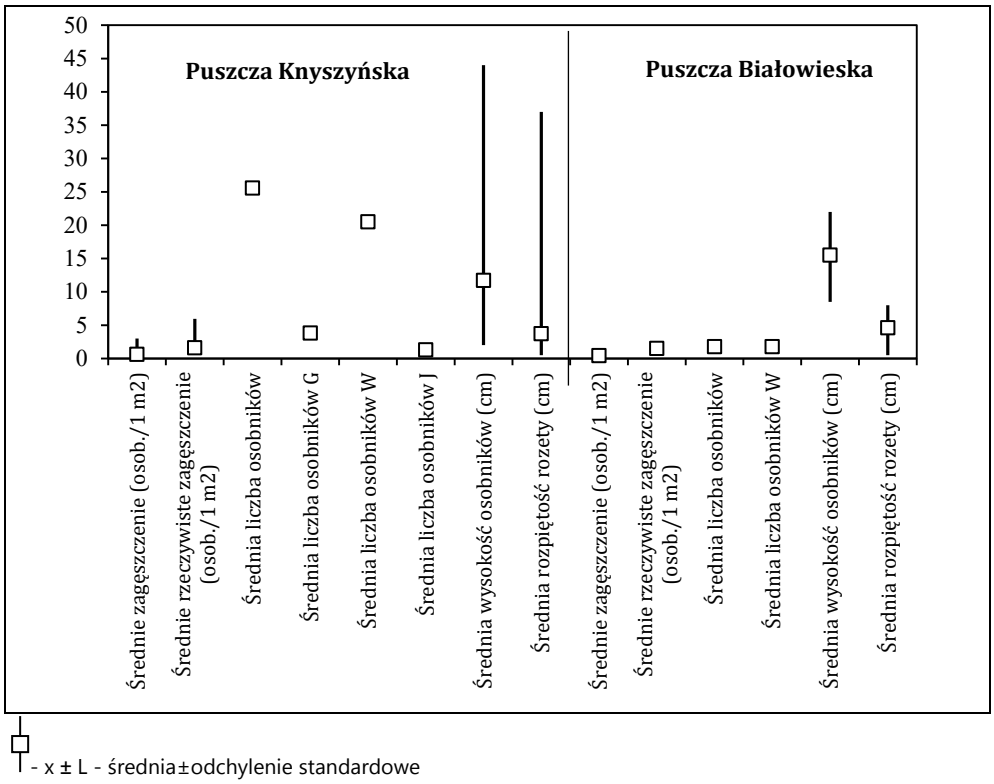
Wartości średniego i rzeczywistego zagęszczenia osobników *P. patens* w badanych populacjach, w porównaniu z wartościami zagęszczenia w innych populacjach w północno-wschodniej Polsce wskazują, że liczebność populacji w PB kształtuje się na bardzo niskim poziomie. W Nadleśnictwie Spychowo w Puszczy Piskiej, w dziewięciu populacjach sasanki otwartej, liczących 33 osobniki, średnie zagęszczenie osobników wynosi od 0,25 do 3,0 osob./1 m^2, a rzeczywiste zagęszczenie osiąga od 1,0 do 3,0 osob./1 m^2, przy obecności trzech populacji o skupiskowym typie rozmieszczenia osobników (Łaska, Sienkiewicz 2014). W Nadleśnictwie Pomorze w Puszczy Augustowskiej, w populacji sasanki otwartej liczącej 690 osobników, częstość występowania osobników w populacji wynosi 10%, przy średnim zagęszczeniu 0,20 osob./1 m^2 i zagęszczeniu rzeczywistym 2,01 osob./1 m^2, oraz maksymalnej liczbie 10 osob./1 m^2 i skupiskowym typie rozmieszczenia osobników (Łaska, Sienkiewicz 2015).

4.2. Struktura faz rozwojowych osobników w populacji

Większą liczbę osobników juwenilnych (42), wegetatywnych (676) i generatywnych (125) odnotowano w PK niż w PB. W badanej populacji w PK stwierdzono średnio 21 osobników wegetatywnych, przy obecności czterech osobników generatywnych i jednego osobnika juwenilnego. Występowanie osobników generatywnych odnotowano w 17 populacjach, a w trzech populacjach występują wyłącznie osobniki w tej fazie rozwojowej. Maksymalna liczba osobników generatywnych w populacji wynosi 23. W PB stwierdzono natomiast obecność jedynie siedmiu osobników wegetatywnych, przy średnio dwóch osobnikach i maksymalnej liczbie do dwóch osobników w populacji (Ryc. 5.1).

Analiza porównawcza populacji sasanki otwartej w północno-wschodniej Polsce wykazała, że w PK występuje podobna liczba osobników wegetatywnych (676) i generatywnych (125) do liczby osobników notowanych w Nadleśnictwie Pomorze w Puszczy Augustowskiej (588 osobników wegetatywnych i 102 osobników generatywnych; Łaska, Sienkiewicz 2015). Na stanowiskach sasanki otwartej w Nadleśnictwie Spychowo w Puszczy Piskiej, stwierdzono natomiast znacznie mniej osobników w fazie wegetatywnej (15) i generatywnej (18) niż w PK, ale

w porównaniu do populacji *P. patens* w PB, w Puszczy Piskiej zaobserwowano występowanie osobników generatywnych (Łaska, Sienkiewicz 2014). W populacji w Puszczy Piskiej odnotowano obecność średnio dwóch osobników wegetatywnych i dwóch osobników generatywnych, przy czym osobniki generatywne notowano w dziewięciu populacjach, a w sześciu populacjach stwierdzono jedynie osobniki w tej fazie rozwojowej.



Rycina 5.1. Średnie wielkości struktury ekologicznej populacji sasanki otwartej *Pulsatilla patens* w Puszczy Knyszyńskiej i Puszczy Białowieskiej

Źródło: badania własne.

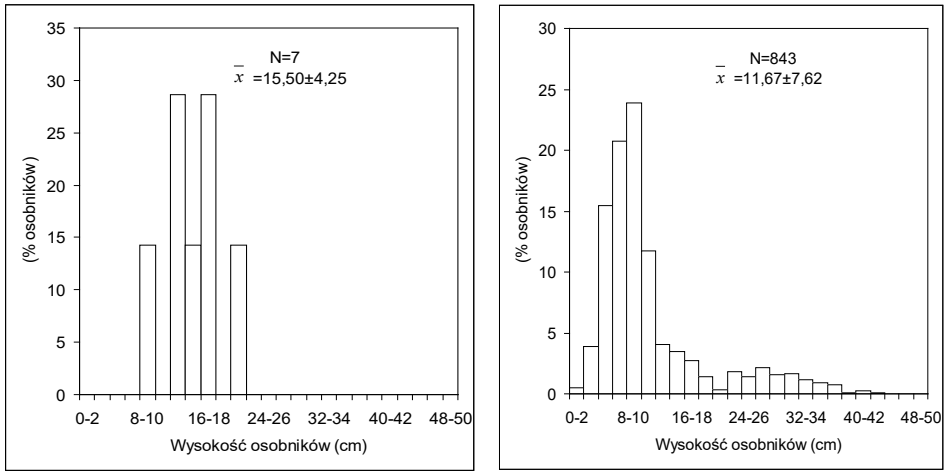
W populacjach sasanki otwartej w PK odnotowano większą liczbę pędów niż w PB. W badaniach określono obecność 4487 pędów, w tym 1043 pędów juwenilnych, 3244 pędów wegetatywnych i 200 pędów generatywnych. Odnotowana w populacjach liczba pędów waha się od 6 do 1639. Stwierdzono także, że w populacji występuje średnio 98 pędów wegetatywnych, przy obecności 32 pędów juwenilnych i sześciu pędów generatywnych. W populacjach dominują 1–3 pędowe

osobniki generatywne, ze średnią liczbą kwiatów 1,6±1,49. W badaniach w PB wykazano natomiast obecność 49 pędów, w tym sześciu pędów juwenilnych i 43 pędów wegetatywnych. Liczba pędów w populacjach waha się od 4 do 10. Wykazano także, że w populacji występuje średnio sześć pędów wegetatywnych i jeden pęd juwenilny, przy dominacji 4 pędowych osobników wegetatywnych.

4.3. Struktura wielkości osobników

W badaniach stwierdzono większą średnią wysokość osobników sasanki otwartej w PB (15,5 cm) niż w PK (11,7 cm), oraz większą średnią rozpiętość przyziemnej rozety osobników w PB (4,6 cm) niż w PK (3,7 cm) (Ryc. 5.1). W PB, w populacjach sasanki otwartej większy udział stanowią osobniki o wysokości od 12 cm do 14 cm (28,6%) i od 16 cm do 18 cm (28,6%). Mniejszy udział mają natomiast osobniki niższe, w klasie wysokości od 8 cm do 10 cm (14,3%) i osobniki wyższe, w klasie wysokości od 20 cm do 22 cm (14,3%) (Ryc. 5.2 a). Najwyższy osobnik sasanki otwartej osiągnął wysokość 22 cm, a najniższy – 8,5 cm. Najwięcej osobników w PK jest o wysokości od 8 cm do 10 cm (23,8%) i od 6 cm do 8 cm (20,8%). W PK najmniej odnotowano osobników wyższych, czyli w klasach od 34 cm do 44 cm wysokości (0,1-0,9%) (Ryc. 5.2 b). Najwyższy osobnik sasanki otwartej osiągnął wysokość 44 cm, a najniższy – 2 cm.

a) b)

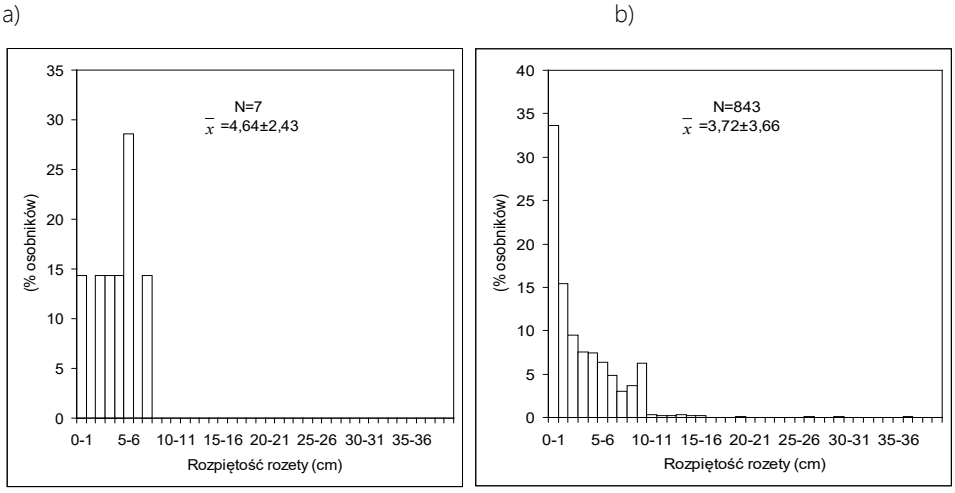


Rycina 5.2. Wysokość osobników w populacjach *Pulsatilla patens* w: a) Puszczy Białowieskiej i b) Puszczy Knyszyńskiej

Źródło: badania własne.

W PB analiza wielkości osobników wykazała, że w populacjach sasanki otwartej dominują osobniki o średnicy przyziemnej rozety od 5 cm do 6 cm (28,6%). Mniejszy jest natomiast udział osobników o średnicy przyziemnej rozety od 7 cm do 8 cm (14,3%) (Ryc. 5.3 a). Średnica przyziemnej rozety sasanki otwartej osiąga maksymalną wielkość do 8 cm, a minimalną – do 0,5 cm. W populacjach w PK dominują osobniki o średnicy rozety do 1 cm (33,7%) i od 1 cm do 2 cm (15,4%). Mniejszy udział jest natomiast osobników dużych, o średnicy od 10 cm do 16 cm (0,2-0,4%) (Ryc. 5.3 b). Średnica przyziemnej rozety sasanki otwartej osiąga maksymalnie do 37 cm, a minimalnie – do 0,5 cm.

Analiza struktury wielkości osobników sasanki otwartej w kompleksach leśnych północno-wschodniej Polski wykazała, że w PK osobniki osiągają najmniejszą średnią wysokość i rozpiętość przyziemnej rozety. Na stanowiskach w Nadleśnictwie Spychowo w Puszczy Piskiej osobniki są wyższe (średnia wysokość 18,7 cm) niż w PK (11,7 cm) i w PB (15,5 cm) oraz osiągają maksymalnie wysokość do 35 cm. W Puszczy Piskiej, średnica przyziemnej rozety osobników (3,8 cm) jest niemal taka sama jak w PK (3,7 cm), ale mniejsza niż w PB (4,6 cm) (Łaska, Sienkiewicz 2014). Wyższe osobniki (średnia wysokość 19,4 cm) i większe rozety (średnia rozpiętość 8,1 cm) sasanki otwartej w porównaniu do kompleksów PK i PB, notowano w populacji *P. patens* w Nadleśnictwie Pomorze w Puszczy Augustowskiej. W populacji tej osobniki osiągają maksymalnie wysokość do 58 cm i rozpiętość rozety maksymalnie do 47 cm (Łaska, Sienkiewicz 2015).



Rycina 5.3. Rozpiętość przyziemnej rozety osobników w populacjach *Pulsatilla patens* w: a) Puszczy Białowieskiej i b) Puszczy Knyszyńskiej

Źródło: badania własne.

4.4. Zagrożenia populacji *P. patens* i działania ochronne

Głównym zagrożeniem dla dalszej egzystencji populacji sasanki otwartej w Puszczy Knyszyńskiej jest znaczne pokrycie przez warstwę zielną. Stwierdzono, że im większe jest pokrycie warstwy zielnej, tym mniejsza jest w populacjach liczba osobników tego gatunku (Łaska, Sienkiewicz 2013). Osobniki rosnące na stanowiskach o zwartej pokrywie runa, słabiej kwitną i owocują. Ze względu na niską konkurencyjność sasanki otwartej w stosunku do innych roślin runa, wzrost stopnia pokrycia warstwy zielnej może przyczynić się do ustąpienia populacji. Liczne występowanie innych gatunków w runie leśnym ogranicza kiełkowanie nasion i rekrutację siewek badanego taksonu oraz redukuje znacznie dostępność miejsc do wzrostu i rozwoju młodych osobników. W celu zachowania badanych populacji na stanowiskach, w Puszczy Knyszyńskiej niezbędne jest stosowanie zabiegów ochrony czynnej oraz stałe monitorowanie stopnia pokrycia przez warstwę zielną. Ochrona czynna powinna obejmować działania związane z usuwaniem konkurencyjnych gatunków w runie leśnym. Warunkiem zachowania tego taksonu w miejscach o znacznym pokryciu przez warstwę zielną, jest odsłanianie fragmentów gleby w celu tworzenia bezpiecznych miejsc do kiełkowania i rozwoju nowych osobników.

Badane populacje sasanki otwartej w Puszczy Białowieskiej z kolei charakteryzują się znacznym rozproszeniem i niewielką liczebnością. *P. patens* jako gatunek światłożądny, preferuje stanowiska widne, prześwietlone i dobrze nasłonecznione. Istotne znaczenie dla dalszej egzystencji populacji tego taksonu ma utrzymanie odpowiedniego zwarcia warstwy drzew, gdyż między innymi od niego zależy naturalne odnawianie się populacji. Zanik naturalnych czynników zaburzeń w postaci pożarów i wiatrołomów, które tworzą luki w drzewostanie, może być przyczyną wycofania się sasanki otwartej z tego obszaru. Ochrona czynna powinna obejmować działania związane z prześwietlaniem drzewostanu oraz odsłanianiem fragmentów gleby w celu zwiększenia areału zajmowanego przez osobniki tego gatunku. Ze względu na niewielką liczebność populacji sasanki otwartej w celu ochrony zaleca się dodatkowo zabezpieczenie miejsc jej występowania.

5. Podsumowanie i wnioski

O randze zagrożenia sasanki otwartej świadczy fakt, że na terenie Polski stanowiska tego taksonu objęte są ochroną w sześciu parkach narodowych, w 21 parkach krajobrazowych oraz w 29 rezerwatach przyrody (Zych 2007). Badania wyka-

zały, że populacje sasanki otwartej w PB są najmniej liczne w porównaniu z liczebnością notowaną w innych regionach północno-wschodniej Polski. W PK stwierdzono 33 populacje o łącznej liczbie 843 osobników. Podobną liczebność osobników (690) odnotowano w populacji w Nadleśnictwie Pomorze w Puszczy Augustowskiej (Łaska, Sienkiewicz 2015). Na Murawach Poligonu w Orzyszu, naliczono większą liczbę populacji (49), ale o łącznej liczbie 316 osobników (Juśkiewicz-Swaczyna 2010). Natomiast w Nadleśnictwie Spychowo w Puszczy Piskiej stwierdzono dziewięć populacji z 33 osobnikami (Łaska, Sienkiewicz 2014).

Na podstawie analizy struktury ekologicznej *P. patens* stwierdzono, że badane populacje na obszarze PK są w dobrej kondycji. Świadczy o tym występowanie w tych populacjach większej liczby osobników, rozmieszczonych głównie skupiskowo. Większą średnią wysokość osobników oraz średnią rozpiętość przyziemnej rozety stwierdzono w PB, jednak populacje te charakteryzują się bardzo małą liczebnością. Należy podkreślić, że tendencje rozwojowe w PB warunkowane są obecnością osobników juwenilnych oraz korzystnymi warunkami środowiskowymi do ich wzrostu i rozwoju.

Określone w badaniach na terenie PK i PB znaczne rozproszenie populacji, częsta obecność pojedynczych osobników tego gatunku, brak w populacjach osobników młodych, niepotwierdzona obecność osobników na wcześniej notowanych stanowiskach, jest powodem, dla którego sasance otwartej nadano status gatunku narażonego na wyginięcie (VU).

Podziękowania

Serdeczne podziękowania składamy Dyrektorowi BPN za pomoc w lokalizacji stanowisk sasanki otwartej *Pulsatilla patens* (L.) Mill. Badania zostały zrealizowane w ramach pracy nr MB/WBiIŚ/10/2014 i S/WBiIŚ/5/2016 oraz sfinansowane ze środków na naukę MNiSW.

Literatura

Chmura D. 2003. Zagrożenia lokalnych populacji sasanki otwartej *Pulsatilla patens* na przykładzie stanowiska na Sodowej Górze w Jaworznie. Chrońmy Przyr. Ojcz., 59(5): 14–27.

European Nature Information System (EUNIS), 2005. Species factsheet for *Pulsatilla patens.* http://eunis.eea.eu.int/speciesfactsheet.jsp?idSpecies=177045&idSpeciesLink=177045.

Gärdenfors U. 2000. Population Viability Analysis in the Classification of Threatened Species: Problems and Potentials. Ecol. Bull., 48: 181–190.

Główny Urząd Statystyczny. 2014. Ochrona Środowiska. Zakład Wydawnictw Statystycznych, Warszawa.

Holub J., Procházka F. 2000. Red List of vascular plants of the Czech Republic – 2000. Preslia, 72: 187–230.

Juśkiewicz-Swaczyna B. 2010. Population structure of *Pulsatilla patens* in relation to the habitat quality. Tuexenia, 30: 457–466.

Karczewska M. 2009. Nowe stanowisko *Pulsatilla patens (Ranunculaceae)* w Białowieskim Parku Narodowym. Fragm. Flor. Geobot. Polonica, 16: 438–440.

Kaźmierczakowa R., Zarzycki K., Mirek Z. 2014. Polska Czerwona Księga Roślin. Instytut Ochrony Przyrody PAN, Kraków.

Kącki Z. 2003. Zagrożone gatunki flory naczyniowej Dolnego Śląska. Instytut Biologii Uniwersytetu Wrocławskiego, Tow. Przyjaciół Przyrody „Pro Natura", Wrocław.

Łaska G. 2009. Europejska sieć ekologiczna Natura 2000 a ocena oddziaływania na środowisko przyrodnicze. [W:] Łaska G. (red.), Ochrona środowiska. Perspektywy i strategie rozwoju gospodarczego Puszczy Knyszyńskiej oraz ochrona przyrody na Litwie. Stowarzyszenie Uroczysko, Białystok, 51–68.

Łaska G., Sienkiewicz A. 2013. Stan zachowania i zagrożenie populacji *Pulsatilla patens* (L.) Mill. pod wpływem zmiennych warunków środowiska przyrodniczego w Puszczy Knyszyńskiej. [W:] Ciereszko I., Bajguz A. (red.), Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu. Rośliny i grzyby w zmieniających się warunkach środowiska. Wyd. PTB, Białystok, 143–154.

Łaska G., Sienkiewicz A. 2014. Stan zachowania i zagrożenie populacji sasanki otwartej *Pulsatilla patens* (L.) Mill. w Nadleśnictwie Spychowo w Puszczy Piskiej. [W:] Łaska G. (red.), Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu. Zagrożenia środowiska a ochrona gatunkowa roślin i grzybów. Wyd. PTB, Białystok, 143–152.

Łaska G., Sienkiewicz A. 2015. Stan zachowania i zagrożenie populacji sasanki otwartej *Pulsatilla patens* (L.) Mill. w Nadleśnictwie Pomorze w Puszczy Augustowskiej. [W:] Ciereszko I., Bajguz A. (red.), Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu. Funkcjonowanie roślin i grzybów. Środowisko – eksperyment – edukacja. Wyd. PTB, Białystok, 117–128.

Łukaszewicz A. 1962. Morfologiczno-rozwojowe typy bylin. PTPN, Poznań.

Mirek Z., Piękoś-Mirkowa H. 2008. Czerwona Księga Karpat Polskich. Rośliny naczyniowe. Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN, Kraków.

Noskov G. A. 2000. Red data book of nature of Leningrad Region. Plants and Fungi. St. Petersburg, vol. 2.

Nowak A., Spałek K. 2002. Czerwona Księga Roślin Województwa Opolskiego. Rośliny naczyniowe wymarłe, zagrożone i rzadkie. Polskie Towarzystwo Przyjaciół Nauk, Opole.

Perzanowska J. (red.) 2010. Monitoring gatunków roślin. Przewodnik metodyczny. Część 1. GIOŚ, Warszawa.

Pilt I., Kukk Ü. 2002. *Pulsatilla patens* and *Pulsatilla pratensis (Ranunculaceae)* in Estonia: distribution and ecology. Proc. Estonian Acad. Sci. Biol. Ecol., 51: 242–256.

Průša D., Eliáš ml. P., Dítě D., Čačko L., Krása P., Podešva Z., Kovář L., Průšová M., Hoskovec L., Adamec L. 2005. Chránené rastliny Českej a Slovenskej republiky. Computer Press, Brno.

Rassi P., Alanen A., Kanerva T., Mannerkoski I. 2001. The 2000 Red List of Finnish species. The II Committee for the Monitoring of Threatened Species in Finland. The Ministry of the Environment, Helsinki.

Raunkiaer C. 1905. Types biologiques pour la géographie botanique. Overs. Kongel. Danske Vidensk. Selsk. Forh. Medlemmers Arbeider, 5: 347–437.

Regionalna Dyrekcja Lasów Państwowych. 2007–2008. Inwentaryzacja przyrodnicza „Natura 2000".

Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 października 2014 r. w sprawie ochrony gatunkowej roślin (Dz.U. 2014, poz. 1409).

Röder D., Kiehl K. 2006. Population structure and population dynamic of *Pulsatilla patens* (L.) Mill. in relation to vegetation characteristics. Flora, 201: 499–507.

Tyszkiewicz Z., Łaska G. 2016. Dominacja gatunkowa grzybów glebowych w wybranym zbiorowisku grądu *Tilio-Carpinetum* z terenu Puszczy Białowieskiej w 2015 roku. [W:] Ciereszko I., Bajguz A. (red.), Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu. Rośliny i grzyby – badania środowiskowe i laboratoryjne. Wyd. PTB, Białystok, 167–176.

Uotila P. 1996. Decline of *Anemone patens (Ranunculaceae)* in Finland. Acta Univ. Ups. Symb. Bot. Upsal., 31: 205–210.

Wójtowicz W. 2000. Biologia, wymagania siedliskowe i możliwości uprawy zachowawczej *Pulsatilla patens* (L.) Mill. Biul. Ogr. Bot., 9: 45–54.

Wójtowicz W. 2004. *Pulsatilla patens* (L.) Mill. Sasanka otwarta. [W:] Werblan-Jakubiec H., Sudnik-Wójcikowska B. (red.), Poradnik ochrony siedlisk i gatunków Natura 2000, 9: 168–171.

Zarzycki K., Szeląg Z. 2006. Czerwona lista roślin naczyniowych w Polsce. [W:] Mirek Z., Zarzycki K., Wojewoda W., Szeląg Z. (red.), Czerwona lista roślin i grzybów Polski. Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN, Kraków, 9–20.

Zych M. 2007. Krajowy Plan Ochrony Gatunku Sasanka otwarta (*Pulsatilla patens* (L.) Mill.), Warszawa.

6 Brodawki korzeniowe jako organy symbiozy roślin bobowatych z ich diazotroficznymi mikrosymbiontami – rozwój, budowa i funkcjonowanie w warunkach fizjologicznych oraz stresu oksydacyjnego

Ewa **Oleńska**[1] / Wanda **Małek**[2]

[1] Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny
Instytut Biologii, Zakład Genetyki i Ewolucjonizmu

ul. K. Ciołkowskiego 1J, 15–245 Białystok
e-mail: chwelat@uwb.edu.pl

[2] Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Biologii i Biotechnologii
Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii, Zakład Genetyki i Mikrobiologii

ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Streszczenie: Brodawki korzeniowe są organami symbiozy roślin bobowatych (*Fabaceae*) z ryzobiami, zwanymi także bakteriami brodawkowymi. Ryzobia obecne w brodawkach redukują nieprzyswajalny dla roślin azot cząsteczkowy do przyswajalnego dla roślin amoniaku, natomiast roślinny gospodarz zapewnia bakteriom bezpieczną niszę chroniącą je przed negatywnym wpływem środowiska oraz dostarcza źródeł węgla i innych składników odżywczych. Ryzobia nawiązują relację symbiotyczną z określonymi roślinami bobowatymi. Zakres tej specyficzności jest zróżnicowany, co oznacza, że dany gatunek bakterii wchodzi w relację symbiotyczną z roślinami tylko jednego rodzaju, np. *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* z koniczyną (*Trifolium* sp.) lub z kilkoma rodzajami roślinnych gospodarzy, np. *R. leguminosarum* bv. *viciae* z: grochem *Pisum* sp., wyką *Viciae* sp., groszkiem *Lathyrus* sp. czy soczewicą *Lens* sp. Brodawki korzeniowe powstają w wyniku specyficznego dialogu chemicznego pomiędzy dwoma partnerami symbiozy, a proces powstawania brodawek, które mogą charakteryzować się ograniczonym (zdeterminowane) lub nieograniczonym wzrostem (niezdeterminowane i kołnierzykowate), jest złożony i wieloetapowy. Celem pracy jest przedstawienie procesu powstawania brodawek korzeniowych roślin bobowatych, charakterystyka ich budowy oraz pełnionej funkcji w warunkach naturalnych oraz w warunkach stresu oksydacyjnego, wywołanego obecnością toksycznych metali ciężkich.

Słowa kluczowe: czynniki Nod, dialog molekularny, roślinne strategie unikania infekcji.

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 87-100

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

Diazotrofia, czyli zdolność do biologicznego wiązania azotu atmosferycznego (N_2) (BNF – *biological nitrogen fixation*) jest cechą mikroorganizmów wolno żyjących w glebie i wiążących N_2 w stanie asymbiotycznym, np. *Clostridium* sp., *Azotobacter* sp. *Anabaena* sp. czy *Nostoc* sp. oraz bakterii wiążących azot atmosferyczny w interakcji symbiotycznej z roślinami wyższymi, np. *Frankia* sp. czy też bakterie brodawkowe, zwane powszechnie ryzobiami (Franche i in. 2009). W stanie asymbiotycznym bakterie brodawkowe nie są zdolne do wiązania N_2 (stan saprofityczny). Dopiero w wyniku wytworzenia specyficznej dla tej grupy drobnoustrojów asocjacji z roślinami bobowatymi (co jest widoczne w postaci uformowanej brodawki), jest możliwa redukcja azotu atmosferycznego do amoniaku oraz wzajemna wymiana korzystnych związków, potrzebnych do życia obu partnerów symbiozy (Gordon i in. 2001). Intensywna działalność człowieka oraz zasobność litosfery w metale ciężkie, mogą być źródłem, między innymi stresu oksydacyjnego w tkankach roślinnych, co może zaburzać złożony i wysoce specyficzny proces powstawania i funkcjonowania brodawki korzeniowej (Gzyl i in. 2009).

Efektywna symbioza roślin bobowatych z bakteriami brodawkowymi ma istotne znaczenie dla ekosystemów, gdyż między innymi odgrywa kluczową rolę w asymilacji niedostępnego roślinom azotu cząsteczkowego i jego transformację w formę dla nich przyswajalną. Obliczono, że światowy poziom azotu wiązanego przez organizmy diazotroficzne wynosi ok. 122 mln t rocznie, z czego 50–70 mln t rocznie jest wiązana w uprawach rolniczych, w tym 22 mln ton azotu rocznie przyswajają bakterie zasocjowane z roślinami bobowatymi (Herridge i in. 2008); natomiast ogólna ilość azotu związanego przez bakterie symbiotyczne w ekosystemach lądowych stanowi około 70–80%. Mutualistyczna wymiana składników pomiędzy makro- i mikrosymbiontem ryzobiowym odbywa się na terenie brodawki, zlokalizowanej najczęściej na korzeniu rośliny. Brodawki korzeniowe posiadają złożoną strukturę anatomiczną i cytologiczną, a ich funkcją jest przyswajanie azotu cząsteczkowego (Borucki 1998). Genezę brodawek rozpoczyna specyficzny, tzw. dialog molekularny (Perret i in. 2000; Spaink 2000) pomiędzy mikroorganizmem a roślinnym gospodarzem, poprzedzony uruchomieniem przez ryzobia mechanizmów umożliwiających uniknięcie odpowiedzi obronnej roślin.

2. Mechanizmy obronne roślin przed infekcją

Utworzenie asocjacji pomiędzy dwoma niespokrewnionymi organizmami wymaga pokonania różnych barier chroniących roślinę przez atakiem roślinożerców oraz organizmów patogennych (wirusy, bakterie, grzyby). Bariery te mogą funkcjonować na zasadzie: (1) utrudniania infekcji lub (2) pozbywania się patogenu z zakażonych tkanek. Do mechanizmów utrudniających infekcję gospodarza roślinnego należy, między innymi, synteza i wydzielanie: (1) fitoaleksyn, które są metabolitami wtórnymi o zróżnicowanej budowie (izoflawonoidowej, seskwiterpenowej, glikosteroidowej, alkaloidowej, poliacetylenowej czy fenolowej) (Ahuja i in. 2012; Ejike i in. 2013), produkowanych w odpowiedzi na obecność czynników biotycznych i abiotycznych, które hamują wzrost mikroorganizmów (Soledade i in. 2010), (2) chitynaz i glukanaz – enzymów hydrolizujących ściany komórkowe grzybów patogennych oraz (3) tworzenie wielowarstwowych ścian komórkowych zbudowanych z trudno degradowalnych polisacharydów. W przypadku wniknięcia obcego organizmu do tkanek rośliny, gospodarz może uruchomić reakcje obronne dwojakiego rodzaju: (1) lokalne, prowadzące do miejscowych modyfikacji w zakażonych komórkach roślinnych, w wyniku czego najczęściej dochodzi do zerwania łączności funkcjonalnej z komórkami niezakażonymi i apoptoza komórek zakażonych, oraz (2) systemiczne, prowadzące do obrony całej rośliny przed zakażeniem. Reakcje lokalne (reakcje nadwrażliwości, ang. *hypersensitive response,* HR) mogą polegać na: (1) wzbudzeniu wybuchu tlenowego w formie reaktywnych form tlenu, działających miejscowo i cytotoksycznie na zakażone komórki rośliny, (2) wzroście sieciowania kwaśnych białek strukturalnych ścian komórkowych, bogatych w glicynę i serynę (ang. *glycine and serine rich proteins*, GSRP), co sprzyja ograniczeniu przepuszczalności tej bariery komórkowej, oraz (3) zwiększeniu aktywności białek związanych z patogenezą, tj. chitynaz, proteinaz, glukanaz, inhibitorów enzymów syntetyzowanych i wydzielanych przez patogeny, białek bakteriobójczych, enzymów szlaku biosyntezy bakteriostatyków oraz białek uczestniczących w apoptozie. Reakcje systemiczne mogą polegać na: systemicznej oporności nabytej (ang. *systemic acquired resistance*, SAR), w której endogenną cząsteczką sygnalną jest kwas salicylowy oraz oporności indukowanej (ang. *induced systemic resistance*, ISR), gdzie cząsteczką sygnalną jest kwas jasmonowy i etylen (Wielbo, Skorupska 2003).

3. Ryzobiowe mechanizmy unikania barier obronnych u roślin

Bakterie brodawkowe są mniej wrażliwe od innych mikroorganizmów na bakteriostatyczne działanie niespecyficznych fitoaleksyn, co ma związek, miedzy innymi, ze zdolnością tych drobnoustrojów do syntezy związków ochronnych, np. cyklicznych β-glukanów. Na przykład, syntetyzowane przez bradyryzobia β-(1,3)-β-(1,6)-glukany, które są obecne na powierzchni komórek bakterii, mogą ograniczać jej kontakt z fitoaleksynami, a wydzielone do ryzosfery – mogą hamować syntezę fitoaleksyn, poprzez zablokowanie receptorów uczestniczących w aktywacji syntezy tych roślinnych flawonoidów (Breedveld, Miller 1994). Ponadto dodatkowym, konstytutywnym zabezpieczeniem ryzobiów przed działaniem roślinnych flawonoidów jest obecność struktur powierzchniowych, tj. lipopolisacharydów (LPS) oraz egzopolisacharydów (EPS), o działaniu zbliżonym do cyklicznych glukanów.

Hydrolazy obecne w środowisku glebowym mogą w istotny, negatywny sposób wpłynąć na proces powstawania brodawek korzeniowych, zaburzając wymianę sygnałów chemicznych pomiędzy potencjalnymi komponentami symbiozy, np. poprzez hydrolizę czynników Nod, chitolipooligosacharydowych związków, kluczowych w procesie brodawkowania. Mechanizmem unikania szkodliwego działania chitynaz jest modyfikacja struktury czynników Nod, na przykład u *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* odbywa się to poprzez przyłączenie grup fukozylowych do łańcucha czynnika Nod, w wyniku czego związki te stają się niewrażliwe na te enzymy oraz białka chitynazopodobne (Ovtsyna i in. 2000). Ostatecznie, gdy ryzobia pokonają strategie obronne roślin bobowatych, możliwe jest nawiązanie symbiozy.

4. Dialog molekularny i etapy powstawania brodawki korzeniowej

Saprofityczne bakterie brodawkowe, w odpowiedzi na wydzielane przez rośliny flawonoidowe chemoatraktanty, które w odróżnieniu do struktury chemicznej flawonoidowych przedstawicieli toksycznych fitoaleksyn, wykazują hydroksylację w pozycji C-4 i C-7 (Cunningham i in. 1991), przemieszczają się w roztworze glebowym w kierunku korzeni roślin, których eksudaty bogate, między innymi, w kwasy organiczne, węglowodany, witaminy, pochodne fenolowe czy aminokwasy, stanowią cenne źródło energii. Flawonoidy działają również jako induktory

rodziny genów brodawkowania składającej się z genów *nod*, *noe*, *nol*, których loci są zlokalizowane na plazmidach lub chromosomalnych wyspach symbiotycznych (MacLean i in. 2007). Flawonoidy wiążą się z białkiem regulatorowym NodD, które w wyniku aktywacji, indukuje transkrypcję genów *nod*. Produktami genów brodawkowania są czynniki Nod, które warunkują specyficzność symbiozy z konkretnym gatunkiem roślinnego gospodarza oraz są nadrzędnym regulatorem procesu brodawkowania (nodulacji) (Franche i in. 2009): uczestniczą w deformacji włośnika korzeniowego, indukcji merystemów brodawek oraz w wytworzeniu w pełni funkcjonalnej brodawki zawierającej bakteroidy redukujące azot atmosferyczny (Walker, Downie 2000). Czynniki Nod posiadają wspólne cechy, tj. składają się ze szkieletu zbudowanego zwykle z 4–5 reszt N-acetylo-D-glukozaminy, połączonych wiązaniem β-(1-4)-glikozydowym, który zawiera łańcuch acylowy przyłączony w pozycji C2 końca nieredukującego (Garg, Geetanjali 2007). W tworzeniu stosunkowo konserwatywnego rdzenia czynników Nod uczestniczą kluczowe białka, determinowane przez geny wspólne *nodABC*, gdzie produktem genu *nodA* jest białko zaangażowane w N-acylację aminocukrowego szkieletu, *nodB* enzym deacetylaza chitooligosacharydowa, *nodC* N-acetyloglukozoaminylotransferaza (Roche i in. 1996), natomiast produkty szeregu innych genów *nod* uczestniczą w przyłączaniu do rdzenia czynnika Nod reszt wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (*nodEF*) i innych podstawników (Brencic, Winans 2005). Na przykład, gen *nodH* determinuje enzym sulfonotransferazę przenoszącą grupę sulfonową na redukujący koniec czynników Nod u *Rhizobium meliloti* (Ehrhardt i in. 1995). Różnice w: (1) liczbie reszt glukozoaminowych budujących szkielet, (2) rodzaju podstawników przyłączonych do szkieletu, np. grupy sulfonowej, metylowej, karbamylowej, acetylowej, fukozylowej, arabinozylowej i in. oraz (3) strukturze łańcucha acylowego, determinują swoistość czynników Nod (Gordon i in. 2001; Yakota, Hayashi 2011) i specyficzność gatunkową interakcji symbiotycznej ryzobium-roślina bobowata (Perret i in. 2000). Poza flawonoidami, efektywnymi induktorami genów *nod* są betainy (Chen, Murata 2002), np. stachydryna (metylobetaina N-metyloproliny) czy trigonellina (N-metylobetaina kwasu nikotynowego) pochodzące z *Medicago sativa*, i indukujące geny *nod* u *Ensifer meliloti*.

W wyniku chemotaksji, bakterie docierają do powierzchni włośników korzeniowych i są adsorbowane na ich powierzchni. Adsorpcja ryzobiów na włośnikach korzeniowych jest procesem dwuetapowym. W pierwszym etapie do włośnika odwracalnie przyłączają się bakterie niespecyficzne i specyficzne gatunkowo, natomiast w drugim etapie adhezja dotyczy wyłącznie specyficznych gatunkowo ryzobiów. W tym procesie istotne znaczenie odgrywają lektyny roślinnego gospodarza, które są glikoproteinami specyficznie rozpoznającymi i wiążącymi zewnątrzko-

mórkowe polisacharydy (EPS), kapsularne polisacharydy (CPS) oraz lipopolisacharydy (LPS) ryzobiów (Baiymiev i in. 2001; Gubaidullin i in. 2007). W odpowiedzi na zaadsorbowane do włośnika korzeniowego bakterie i wydzielane przez nie czynniki Nod, następuje skręcanie włośników korzeniowych i tworzenie tzw. laski pasterza. Deformacja włośników odbywa się pod wpływem produktów genów wspólnych *nodABC* oraz genów specyficzności gospodarza (*hsn – host-specificity nodulation*), np. produktu genu *nodH*. Właściwa infekcja rozpoczyna się unieruchomieniem komórki bakteryjnej pomiędzy ścianami komórkowymi skręconego włośnika, hydrolizą ściany i wpukleniem błony komórkowej włośnika, co inicjuje powstanie nici infekcyjnej (Crespi, Galvez 2000). W rzadkich przypadkach, np. u *Arachis* infekcja odbywa się poprzez naturalnie tworzące się uszkodzenia ryzodermy korzenia rośliny (Hadri i in. 1998). Zadaniem nici infekcyjnej, która rosnąc przenika kolejne komórki kory pierwotnej korzenia, jest transfer komórek bakterii do zawiązka brodawki (tzw. *primordium*), które w zależności od typu brodawki, powstaje albo na terenie kory wewnętrznej (typ niezdeterminowany), albo kory zewnętrznej korzenia (typ zdeterminowany), gdzie następuje ich uwolnienie do cytoplazmy komórek gospodarza. W cytoplazmie ryzobia zostają otoczone błoną perykobakteroidalną pochodzenia roślinnego, tworząc symbiosomy. W nich następuje przekształcenie bakterii saprofitycznych w diazotroficzne formy bakteroidalne (bakteroidy), które nie są zdolne do samodzielnej egzystencji poza strukturą brodawki (Long 2001).

5. Funkcjonowanie dojrzałej brodawki

Wiązanie azotu cząsteczkowego (MacLean i in. 2007) jest procesem wymagającym energii, której dostarcza roślina. Sacharoza jest transportowana bezpośrednio do brodawki korzeniowej, podczas gdy kwasy dikarboksylowe, będące źródłem węgla i energii, bakteroidy otrzymują przez błonę symbiosomu (White i in. 2007). Tlen niezbędny do procesu wytworzenia energii w postaci ATP, jest utrzymywany na stałym, lecz niskim poziomie dzięki białku leghemoglobinie, należącym do złożonej i rozpowszechnionej u organizmów żywych rodziny globin. Białko to wiąże tlen, dostarczając go bakteroidom, jednocześnie ochraniając wrażliwy na ten gaz kompleks nitrogenazy (Franche i in. 2009; Hu, Ribbe 2015). Wyprodukowany przez bakteroidy amoniak, jest transportowany przez błonę symbiosomu do cytozolu rośliny, gdzie jest przekształcany do kwasu glutaminowego lub asparaginowego. W brodawkach typu zdeterminowanego aminokwasy te są przekształcane do ureidów (pochodne mocznika), i w tej formie są transportowane do rośliny, nato-

miast rośliny wytwarzające brodawki typu niezdeterminowanego, transportują azot w postaci amidów (pochodne aminokwasów) (Kahn i in. 1998; Fustec i in. 2010).

6. Rodzaje i budowa brodawek korzeniowych

Brodawki indukowane przez ryzobia na korzeniach roślin bobowatych mogą być typu: zdeterminowanego, niezdeterminowanego oraz kołnierzykowatego (Borucki 1998) (Tab. 6.1).

Tabela 6.1. Cechy charakterystyczne typów brodawek korzeniowych roślin bobowatych

Cecha	Brodawka		
	zdeterminowana	niezdeterminowana	kołnierzykowata
kształt	sferyczny	cylindryczny	obrasta korzeń
merystem brodawki	- powstaje w zewnętrznych komórkach kory pierwotnej korzenia, - dzieli się krótko, - bakterie rozprzestrzeniają się przez podział zainfekowanych komórek roślinnych	- powstaje w wewnętrznych komórkach kory pierwotnej korzenia, - dzieli się przez cały okres wegetacyjny, - bakterie rozprzestrzeniają się przez rozgałęzienia nici infekcyjnej	- dzieli się przez cały okres wegetacyjny, - bakterie rozprzestrzeniają się przez podział zainfekowanych komórek roślinnych
gradient rozwojowy brodawki	brak	obecny	obecny
forma transportu azotu	ureidy	amidy	amidy
roślinny gospodarz	soja, komonica, bób, fasola	lucerna, groch, koniczyna, wyka	łubin

Brodawki typu zdeterminowanego (ograniczone) posiadają kształt kulisty, nić infekcyjna, która poprzedza ich powstanie jest wąska, merystem brodawki powstaje bezpośrednio pod infekowanym włośnikiem w zewnętrznych komórkach kory pierwotnej korzenia i dzieli się krótko, bakterie rozprzestrzeniają się wewnątrz brodawki poprzez podział komórek roślinnych zawierających bakterie – brodawki te nie wykazują gradientu rozwojowego (zawiera komórki w identycznej fazie rozwoju), a azot jest transportowany w postaci ureidów. Brodawki tego typu wystę-

pują między innymi, u: soi (*Glycine* sp.), komonicy (*Lotus* sp.), fasoli (*Phaseolus* sp.) czy bobu (*Vicia faba*). Z kolei rośliny: lucerna (*Medicago* sp.), groch (*Pisum* sp.), koniczyna (*Trifolium* sp.) czy wyka (*Vicia sativa*) posiadają brodawki typu niezdeterminowanego (nieograniczone). Brodawki tego typu charakteryzują się cylindrycznym kształtem, nić infekcyjna, która poprzedza ich powstanie jest szeroka, merystem brodawki powstaje w wewnętrznych komórkach kory pierwotnej leżących naprzeciw protoksylemu i dzieli się stale przez cały okres wegetacyjny. Bakterie rozprzestrzeniają się poprzez rozgałęzienia nici infekcyjnej i jej stały wzrost. W brodawce niezdeterminowanej wyróżnia się strefy rozwojowe (1 – merystem na szczycie brodawki bez bakterii, 2 – strefa infekcyjna z licznymi nićmi infekcyjnymi i bakteriami uwalnianymi do komórek, 3 – strefa wiązania azotu, zawierająca leghemoglobinę i bakteroidy w różnych stadiach rozwoju, 4 – strefa późnej symbiozy o zmniejszonej aktywności wiązania azotu, 5 – strefa obumierania, w której niewiążące azotu bakterie i komórki roślinne są degradowane), a azot jest transportowany w formie amidów. Z kolei brodawki korzeniowe typu kołnierzykowatego obrastają korzeń, ich merystem dzieli się stale, przez cały okres wegetacyjny; wykazują one gradientowe strefy rozwojowe, a azot jest transportowany w postaci amidów (Sujkowska 2009).

7. Brodawka korzeniowa w warunkach stresu oksydacyjnego

Stres oksydacyjny, a więc stan zaburzenia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej komórki w kierunku reakcji utlenienia, najczęściej wywołany nadmiernym stężeniem reaktywnych form tlenu, generowanych zwykle pod wpływem metali ciężkich, może wpływać negatywnie na proces brodawkowania oraz funkcjonowanie dojrzałej brodawki. Działanie to może przejawiać się redukcją aktywności i przeżywalności ryzobiów (Chaudri i in. 1992; McGrath i in. 1995), zmniejszeniem liczby powstających brodawek, obniżeniem aktywności nitrogenazy i w konsekwencji – efektywności wiązania azotu cząsteczkowego (Chen i in. 2003; Broos i in. 2004). Relatywnie mniejsza liczba brodawek korzeniowych, które powstają na korzeniach, np. łubinu białego (*Lupinus albus*), koniczyny (*Trifolium* sp.) czy lucerny (*Medicago truncatula*) w obecności metali ciężkich, w odniesieniu do warunków kontrolnych, może wynikać z zaburzeń na etapie infekcji rośliny przez bakterie brodawkowe (Giller i in. 1989), oraz z zahamowania wzrostu korzeni bocznych (Silva i in. 2001). Z kolei w sytuacji, gdy brodawki już powstaną, ich istotnie niższa biomasa w odniesieniu do próby kontrolnej (w przeliczeniu na

biomasę rośliny) jak np. w przypadku łubinu białego, może być konsekwencją ograniczenia pobierania wody i soli mineralnych przez rośliny jako efekt mimikry jonowej, jaką wykazują metale ciężkie do istotnych dla metabolizmu mikro- i makroelementów (Zornoza i in. 2002).

Jony metali ciężkich mogą zmieniać strukturę histologiczną i cytologiczną brodawek korzeniowych (Zheng, Yang 2005). W obecności glinu (Al^{3+}), np. u lucerny *Medicago truncatula* obserwuje się: grubienie ścian komórkowych rośliny i nici infekcyjnych, powiększenie nici infekcyjnych, zaburzenia w uwalnianiu bakterii z nici infekcyjnych, modyfikacje wakuol oraz zmiany strukturalne w organellach symplastycznych i bakteroidach (Sujkowska-Rybkowska i in. 2012). Grubienie ścian komórkowych rośliny zazwyczaj jest powodowane sztywnieniem polisacharydowego szkieletu i jest typowym mechanizmem adaptacyjnym roślin do wysokich stężeń toksycznych jonów w środowisku. Sztywnienie ścian jest wynikiem zwiększonej zawartości różnych składników chemicznych tego apoplastycznego elementu, np. hemiceluloz, glikoprotein, kallozy czy ligniny. Ponadto, polisacharydy, dzięki obecności podstawników: hydroksylowych, karboksylowych czy sulfhydrylowych, mogą chelatować i immobilizować toksyczne jony, utrudniając ich wniknięcie do cytozolu komórki (Krzesłowska 2011).

Wakuolizacja komórek brodawki jest innym, zwykle obserwowanym symptomem negatywnego wpływu metali ciężkich na proces brodawkowania (Alvarez i in. 2012). Uważa się, że proces ten, polegający na powstaniu licznych wakuol, zamiast jednej, centralnie położonej obok jądra komórkowego, może być mechanizmem adaptacyjnym wiązania i unieczynnieniu metali w wakuoli (Barceló, Poschenrieder 1999), typowym dla strategii unikania transportu jonów do cytoplazmy (Prasad 2004). Ponadto, w brodawkach korzeniowych roślin bobowatych traktowanych metalami ciężkimi, np. glinem obserwuje się utratę turgoru i skurczenie wakuol, a wolna przestrzeń, która powstaje na terenie cytoplazmy po skurczeniu wakuol jest wypełniana materiałem granularnym, prawdopodobnie pochodzącym z działalności reticulum endoplazmatycznego szorstkiego (Sujkowska-Rybkowska i in. 2012). W obecności jonów metali ciężkich są obserwowane zmiany również w mitochondriach komórek brodawek korzeniowych, np. obrzmienie mitochondriów, zmniejszenie gęstości macierzy mitochondrialnej, uszkodzenie grzebieni i czasami pęknięcia zewnętrznej błony mitochondrialnej (Gzyl i in. 2009; Panda i in. 2008).

Obserwowane w warunkach stresu oksydacyjnego, generowanego obecnością metali ciężkich, zmiany degeneracyjne tkanki bakteroidalnej są skorelowane ze zmniejszoną aktywnością kompleksu nitrogenazy (Ahmad i in. 2012). Negatywny wpływ metali ciężkich na wiązanie azotu cząsteczkowego może być związany

z uszkodzeniem białek kompleksu nitrogenazy lub zmianami w procesie transkrypcji i translacji rodziny genów *nif* i *fix*, determinujących podjednostki nitrogenazy, np. genów strukturalnych kompleksu nitrogenazy – *nifHDK*, genu *nifA* kodującego pozytywny regulator transkrypcji genów *nif* i *fix*, genów *nifB, nifE, nifN*, które warunkują syntezę kofaktora FeMo nitrogenazy, *nifSWX* wymaganych do pełnej aktywności nitrogenazy, *nifF* i *nifJ* kodujących białka uczestniczące w transporcie elektronów niezbędnych w funkcjonowaniu nitrogenazy, *fixABCX* kodujących łańcuch transportu elektronów do nitrogenazy, *fixNOQP* kodujących błonową oksydazę cytochromu niezbędną do oddychania ryzobiów w środowisku mikroaerofilnym, *fixJKL* kodujących białka regulatorowe czy genów *fixGHIS* o nieznanej jeszcze funkcji (Thiel, Pratte 2014).

Wysokie ponad normę stężenie jonów metali ciężkich, utrzymujące się w środowisku przez pewien czas, jest jednym z czynników doboru naturalnego, którego działanie może przejawiać się w utrwaleniu genotypów opornych na te ksenobiotyki. Tolerancja toksycznych metali u bakterii może wiązać się z wykształceniem różnorodnych mechanizmów adaptacji, np. immobilizacją metali ciężkich w ścianie komórkowej, otoczkach i wydzielinach pozakomórkowych, syntezą niskocząsteczkowych białek tiolowych, w tym glutationu (Singh i in. 2001; Gusmão Lima i in. 2006), syntezą sideroforów (Roy, Chakrabartty 2000) czy białek potencjalnie zaangażowanych w usuwanie metali poza komórkę tzw. *efflux system* (Oleńska, Małek 2013).

Literatura

Ahmad E., Zaidi A., Khan M. S., Oves M. 2012. Heavy metal toxicity to symbiotic nitrogen-fixing microorganism and host legumes. [W:] Zaidi A., Wani P. A., Khan M. S. (red.) Toxicity of heavy metals to legumes and bioremediation, Springer-Verlag/Wien.

Ahuja I., Kissen R., Bones A. M. 2012. Phytoalexins in defense against pathogens. Trends Plant Sci., 17(2): 73–90.

Alvarez I., Sam O., Reynaldo I., Testillano P., Risueno C. M., Arias M. 2012. Morphological and cellular changes in rice roots (*Oryza sativa* L.) caused by Al stress. Bot. Stud., 53: 67–73.

Baiymiev A. K., Chemeris A. V., Baiymiev A. K., Vakhitov V. A. 2001. Hydrocarbon-binding peptides from legume lectins in relation to different host specificity upon legume-*Rhizobium* symbiosis. Russ. J. Genet., 37(2): 156–161.

Barceló J., Poschenrieder Ch. 1999. Structural and ultrastructural changes in heavy metal exposed plants. [W:] Prasad M. N. V., Hagemeyer J. (red.) Heavy metal stress in plants. From molecules to ecosystems, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Borucki W. 1998. Struktura i funkcjonowanie brodawek korzeniowych roślin motylkowatych. Wiad. Bot., 42(1): 41–61.

Breedveld M. W., Miller K. J. 1994. Cyclic β-glucans of members of family *Rhizobiaceae*. Microbiol. Rev., 58: 145–161.

Brencic A., Winans S. C. 2005. Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. Microbiol. Mol. Biol. R., 69: 155–194.

Broos K., Uyttebroek M., Mertens J., Smolders E. 2004. A survey of symbiotic nitrogen fixation by white clover grown on metal contaminated soils. Soil Biol. Biochem., 36: 633–640.

Chaudri A. M., McGrath S. P., Giller K. E. 1992. Survival of the indigenous population of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* in soil spiked with Cd, Zn, Cu and Ni salts. Soil Biol. Biochem., 24: 625–632.

Chen T. H. H., Murata N. 2002. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. Curr. Opin. Plant. Biol., 5: 250–257.

Chen Y. X., He Y. F., Yang Y., Yu Y. L., Zheng S. J., Tian G. M., Luo Y. M., Wong M. H. 2003. Effect of cadmium on nodulation and N_2-fixation of soybean in contaminated soils. Chemosphere, 50: 781–787.

Crespi M., Galvez S. 2000. Molecular mechanisms in root nodule development. J. Plant Growth Regul., 19: 155–166.

Cunningham S., Kollmeyer W. D., Stacey G. 1991. Chemical control of interstrain competition for soybean nodulation by *Bradyrhizobium japonicum*. Appl. Environ. Microb., 57: 1886–1892.

Ehrhardt D. W., Atkinson E. M., Faull K. F., Freedberg D. I., Southerlin D. P., Armstrong R., Long S. R. 1995. *In vitro* sulfotransferase activity of NodH, a nodulation protein of *Rhizobium meliloti* required for host-specific nodulation. J. Bacteriol., 177: 6237–6245.

Ejike Ch. E. C. C., Gong M., Undeninwe Ch. C. 2013. Phytoalexins from the *Poaceae* – biosynthesis, function and prospects in food preservation. Food Res. Inter., 52: 167–177.

Franche C., Lindström K., Elmerich C. 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. Plant Soil, 321: 35–59.

Fustec J., Lesuffleur F., Mahieu S., Cliquet J-B. 2010. Nitrogen rhizodepozition of legumes. A review. Agron. Sustain Dev., 30: 57–66.

Garg N., Geetanjali 2007. Symbiotic nitrogen fixation in legume nodules: process and signaling: a review. Agron. Sustain Dev., 27: 59–68.

Giller K. E., McGrath S. P., Hirsch P. R. 1989. Absence of nitrogen fixation in clover grown on soil subject to long-term contamination with heavy metals is due to survival of only ineffective Rhizobium. Soil Biol. Biochem., 21: 841–848.

Gordon A.J., Lea P. J., Rosenberg Ch., Trinchant J-Ch., 2001. Nodule formation and function. [W:] Lea P.J. et al. (red.), Plant Nitrogen, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 101–146.

Gubaidullin I. I., Baimiev A. K., Baimiev A. K., Chemeris A.V. 2007. The carbohydrate-binding sequences in lectins oft he clovers *Trifolium repens*, *T. pratense*, and *T. trichocephalum*. Russ. J. Genet., 43(4): 376–380.

Gusmão Lima A. I., Caçoilo Corticeiro S., de Almeida Paula Figueira E. M. 2006. Glutathione-mediated cadmium sequestration in *Rhizobium leguminosarum*. Enzyme Microbial. Technol., 39: 763–769.

Gzyl J., Przymusiński R., Gwóźdź E. A. 2009. Ultrastructure analysis of cadmium-tolerant and – sensitive cell lines of cucumber (*Cucumis sativus* L.). Plant Cell Tiss. Organ. Cult., 99: 227–232.

Hadri A-E., Spaink H. P., Bisseling T., Brewin N. J. 1998. Diversity of root nodulation and rhizobial infection processes. [W:] Spaink H.P. i in. (red.) The Rhizobiaceae, Kluwer Academic Publishers

Herridge D. F., Peoples M. B., Boddey R. M. 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. Plant Soil, 311: 1–18.

Hu Y., Ribbe M. W. 2015. Nitrogenase and homologs. J. Biol. Inorg. Chem., 20: 435–445.

Kahn M. L., McDermott T. R., Udvardi M. K. 1998. Carbon and nitrogen metabolism in rhizobia. [W:] Spaink H. P., Kondorosi A., Hooykaas P. J. J. (red.) The Rhizobiaceae. Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers, 98–118.

Krzesłowska M. 2011. The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodeling and its role to defence strategy. Acta Physiol. Plant., 33: 35–51.

Long S. R. 2001. Genes and signals in the *Rhizobium*-legume symbiosis. Plant Physiol., 125: 69–72.

MacLean A. M., Finan T. M., Sadowsky M. J. 2007. Genomes of the symbiotic nitrogen-fixing bacteria of legumes. Plant Physiol., 144: 615–622.

McGrath S. P., Chaudri A. M., Giller K. E. 1995. Long-term effects of land application of sewage sludge: soils, microorganisms and plants. J. Ind. Microbiol., 14: 94–104.

Oleńska E., Małek W. 2013. Sequence analysis of hypothetical lysine exporter genes of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* from calamine old waste heaps and their evolutionary history. Curr. Microbiol., 66: 493–498.

Ovtsyna A. O., Schultze M., Tikhonovivh I. A., Spaink H. P., Kondorosi É., Kondorosi Á., Staehelin Ch. 2000. Nod factors of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* and their fucosylated derivatives stimulate a Nod factor cleaving activity in pea roots and are hydrolyzed in vitro by plant chitinases at different rates. Mol. Plant-Microbe Interact., 13(8): 799–807.

Panda S. K., Yamamoto Y., Kondo H., Matsumoto H. 2008. Mitochondrial alterations related to programmed cell death in tobacco cells under aluminium stress. C. R. Biol., 331: 597–610.

Perret X., Stachelin C., Broughton W. J. 2000. Molecular basis of symbiotic promiscuity. Microbiol. Mol. Biol. R., 64: 180–201.

Prasad M. N. V. 2004. Phytoremediation of metals and radionuclides in the environment: the case for natural hyperaccumulators, metal transporters, soil-amending chelators and transgenic plants. [W:] Prasad M. N. V. (red.) Heavy metal stress in plants, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Roche P., Maillet F., Plazanet C., Debellé F., Ferro M., Truchet G., Promé J-C., Dénarié J. 1996. The common *nodABC* genes of *Rhizobium meliloti* are host-range determinants. Proc. Natl. Acad. Sci., 93: 15305–15310.

Roy N., Chakrabartty P. K. 2000. Effect of aluminium on the production of siderophore by *Rhizobium* sp. (*Cicer arietinum*). Curr. Microbiol., 41: 5–10.

Silva I. R., Smyth T. J., Raper C. D., Carter T. E., Rufty T. W. 2001. Differential aluminium tolerance to soybean: an evaluation of the role of organic acids. Physiol. Plant., 112: 200–210.

Singh S., Kayastha A. M., Asthana R. K., Srivastava P. K., Singh S. P. 2001. Response of *Rhizobium leguminosarum* to nickel stress. World J. Microbiol. Biotechnol., 17: 667–672.

Soledade M., Pedras C., Yaya E. Y. 2010. Phytolexins from *Brassicacea*e – news from the front. Phytochemistry, 71: 1191–1197.

Spaink H. P. 2000. Root nodulation and infection factors produced by rhizobial bacteria. Annu. Rev. Microbiol., 54: 257–288.

Sujkowska M. 2009. Przebieg procesu infekcji w układzie symbiotycznym rośliny motylkowate-*Rhizobium*. Wiad. Bot., 53(1/2): 35–53.

Sujkowska-Rybkowska M., Borucki W., Znojek E. 2012. Structural changes in *Medicago truncatula* root nodules caused by short-term aluminium stress. Symbiosis, 58: 161–170.

Thiel T., Pratte B. S. 2014. Regulation of three nitrogenase gene clusters in the cyanobacterium *Anabaena variabilis* ATCC 29413. Life, 4: 944–967.

Walker S. A., Downie J. A. 2000. Entry of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* into root hairs requires minimal Nod factor specifity, but subsequent infection thread growth requires *nodO* or *nodM*. Mol. Plan-Microbe Interact., 13: 754–762.

White J., Prell J., James E. K., Poole P. 2007. Nutrient sharing between symbionts. Plant Physiol., 144: 604–614.

Wielbo J., Skorupska A. 2003. Strategie symbiotyczne rizobiów w pokonywaniu reakcji obronnych roślin motylkowatych. Post. Biol. Kom., 30(3): 433–446.

Yokota K., Hayashi M. 2011. Function and evolution of nodulation genes in legumes. Cell. Mol. Life Sci., 68: 1341–1351.

Zheng S. J., Yang J. L. 2005. Target sites of aluminium phytotoxicity. Biol. Plant, 49: 321–331.

Zornoza P., Vázquez S., Esteban E., Fernández-Pascual M., Carpena R. 2002. Cadmium-stress in nodulated white lupin: strategies to avoid toxicity. Plant Physiol. Biochem., 40: 1003–1009.

7 Metabolity wtórne *Polemonium caeruleum* L. i *Ostericum palustre* (Besser) Hoffm – ich aktywność biologiczna oraz znaczenie i wykorzystanie w ziołolecznictwie

Grażyna **Łaska**[1] / Natalia **Mioduszewska**[1]
Marcin **Stocki**[2] / Mirosław **Angielczy**k[3]

[1] Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska
Katedra Inżynierii Rolno-Spożywczej i Kształtowania Środowiska
ul. Wiejska 45A, 15–351 Białystok
e-mail: g.laska@pb.edu.pl

[2] Politechnika Białostocka, Zamiejscowy Wydział Leśny w Hajnówce
ul. Piłsudskiego 1A, 17–200 Hajnówka

[3] Podlaski Ogród Ziołowy
Koryciny 73B, 17–315 Grodzisk

Streszczenie: Celem pracy jest określenie substancji czynnych pochodzenia roślinnego oraz ich aktywności biologicznej i właściwości leczniczych u dwóch gatunków roślin: *Polemonium caeruleum* L. – wielosiła błękitnego i *Ostericum palustre* (Besser) Hoffm – staroduba łąkowego. Metanolowe ekstrakty roślinne analizowano chemicznie za pomocą chromatografii gazowej ze spektrometrem masowym (GC/MS).

W części nadziemnej i podziemnej *Polemonium caeruleum* zidentyfikowano po cztery podobne grupy związków, z których największy udział osiągają węglowodany (odpowiednio: 65,61% i 94,37%). Pozostałe reprezentują zróżnicowane chemicznie związki z grupy aminokwasów, estrów kwasów tłuszczowych i kwasów karboksylowych.

W części nadziemnej *Ostericum palustre* określono pięć grup związków, w tym: węglowodany, aminokwasy, kwasy hydroksylowe, kwasy karboksylowe i fenolowe. W części podziemnej *Ostericum palustre* zidentyfikowano sześć grup związków chemicznych, z których największy udział osiągają węglowodany (59,77%), a najmniejszy kwasy cynamonowe (0,12%).

W testach aktywności biologicznej u badanych gatunków potwierdzono istotne działanie antybakteryjne i antymalaryczne oraz właściwości przeciwpasożytnicze i przeciwnowotworowe.

Słowa kluczowe: substancje czynne pochodzenia roślinnego, gatunki chronione, właściwości chemiczne, właściwości lecznicze, GC/MS.

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 101-114

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

Rozwój technologii farmaceutycznej, biochemii i biotechnologii w zakresie naturalnych surowców roślinnych stały się podstawą do zdefiniowania terminu farmakognozja (Schmidt 1811; Muszyński 1927; Koczwara 1966; Borkowski 1974; Kubikowski, Kostowski 1994; Matławska 2006; Kohlmünzer 2007). Jest to nauka zajmująca się surowcami naturalnymi wykorzystywanymi w lecznictwie, między innymi, ich właściwościami biologicznymi i fizycznymi, składem chemicznym i budową anatomiczną (European Pharmacopoeia 2001; Farmakopea Polska 2002). Głównym zadaniem farmakognozji jest szczegółowe badanie surowców roślinnych, które wykazują wysoką aktywność biologiczną i możliwość biosyntezy rożnych związków o charakterze metabolitów wtórnych (Kohlmünzer 2000, 2007). Nauka ta bazuje na chemii składników naturalnych pochodzenia roślinnego, a jej innowacyjne podejście przejawia się w dynamicznym traktowaniu naturalnych źródeł leku, wyodrębniając jednocześnie przemiany biochemiczne zachodzące u zwierząt i roślin, które zmierzają do wytworzenia związków biologicznie czynnych (Mutschler 2004). Należy podkreślić, że rośliny i ich części (owoce, kwiaty, liście, korzenie i nasiona) stanowią magazyn różnorodnych substancji chemicznych o bogatych właściwościach biologicznych. Obok podstawowych substancji obecnych we wszystkich roślinach, takich jak: tłuszcze, białka, węglowodany, które spełniają podstawowe funkcje w ich rozwoju, występują w nich także tzw. substancje metabolizmu wtórnego (Ramawat, Mérillon 2013). To właśnie one odznaczają się wysoką aktywnością biologiczną, która decyduje o zastosowaniu danego taksonu w lecznictwie. Ekstrakty roślinne są wykorzystywane do wytwarzania leków roślinnych, które na szeroką skalę są stosowane w medycynie konwencjonalnej i fitoterapii (Blumenthal 2000, 2003; Broda 2002; Wichtl 2004).

Celem niniejszej pracy jest określenie najważniejszych substancji czynnych pochodzenia roślinnego oraz ich aktywności biologicznej i właściwości leczniczych u dwóch gatunków roślin: *Polemonium caeruleum* L. – wielosiła błękitnego i *Ostericum palustre* (Besser) Hoffm – staroduba łąkowego. Nowatorska farmakognozja zwraca uwagę na właściwości farmakologiczne ich składników chemicznych (Wang 2012; Park 2014; Maltseve i in. 2014; Myslennikov i in. 2014) i potwierdza możliwość ich wykorzystania w lecznictwie (Lv 2015; Yu 2015; Zhong 2015; Zhang 2016; Zheng 2016). Dlatego też w pracy wyizolowano związki chemiczne z obu badanych gatunków roślin i dokonano ich charakterystyki pod względem składu i zawartości w poszczególnych częściach roślin, a także analizowano ich właściwości lecznicze i aktywność biologiczną.

2. Teren i obiekt badań

Materiał do badań pobrano z Podlaskiego Ogrodu Ziołowego „Ziołowy Zakątek", zlokalizowanego w Korycinach, w okolicach miejscowości Siemiatycze, położonej w gminie Grodzisk, na terenie województwa podlaskiego. W Podlaskim Ogrodzie Ziołowym na powierzchni 15 ha uprawiane jest 1500 gatunków i odmian roślin użytkowych, wykorzystywanych w ziołolecznictwie. Podaje się, że kolekcja Ogrodu jest największa w Polsce pod względem liczby gatunków roślin aromatycznych i leczniczych (http://ziolowyzakatek.pl).

Wielosił błękitny *Polemonium caeruleum* L. jest byliną, hemikryptofitem, o wysokości 100–150 cm, z podziemnym kłączem. Roślina ta preferuje wilgotne i eutroficzne siedliska, zasiedlając wilgotne łąki i torfowiska niskie, brzegi zbiorników wodnych i zarośla oraz skraje lasów i zręby. Występuje w miejscach nasłonecznionych, ale toleruje też stanowiska półcieniste i umiarkowane światło (Zarzycki i in. 2002). Jest to gatunek subkontynentalny, który występuje w strefie klimatu umiarkowanego półkuli północnej (Mirek, Piękoś-Mirkowa 2008). Na terenie Polski występuje głównie na północy (Pomorze) i północnym-wschodzie (Podlasie). Uwzględniając status ochronny wielosiła błękitnego, w Polsce takson ten jest objęty ścisłą ochroną gatunkową od 1983 roku i wymaga ochrony czynnej (Dz.U. 2014, poz. 1409). Jako gatunek narażony na wyginięcie (VU) notowany jest w Polskiej Czerwonej Księdze Roślin (Kaźmierczakowa i in. 2014) oraz na Czerwonej liście paprotników i roślin kwiatowych (Kaźmierczakowa i in. 2016).

Starodub łąkowy *Ostericum palustre* (Besser) Hoffm to bylina kłączowa o wysokości 140–160 cm. Jest hemikryptofitym, gatunkiem charakterystycznym rzędu *Molinietalia* i klasy *Molinio-Arrhenatheretea* (Zych i in. 2014). W Polsce jest taksonem rzadkim, który preferuje siedliska wilgotne i eutroficzne, na podłożu mineralnym (Zarzycki i in. 2002). Najwięcej jego stanowisk notowano na Pojezierzu Wielkopolskim, Kujawskim, Mazowszu, Wyżynie Małopolskiej i Lubelskiej oraz w północno-wschodniej części Kotliny Sandomierskiej. Starodub łąkowy od 2001 roku, na terenie Polski podlega ścisłej ochronie gatunkowej i ochronie czynnej (Dz.U. 2014, poz. 1409). Jest on również wymieniony w Załączniku II Dyrektywy Siedliskowej i jako gatunek o znaczeniu wspólnotowym, wymaga wyznaczenia obszarów sieci Natura 2000 (Dz.U. 2014, poz. 1713). Znajduje się też w Polskiej Czerwonej Księdze Roślin (Kaźmierczakowa i in. 2014) jako gatunek narażony na wyginięcie (VU) oraz na Czerwonej liście paprotników i roślin kwiatowych (Kaźmierczakowa i in. 2016) jako takson bliski zagrożenia (NT).

3. Materiały i metody

Z Podlaskiego Ogrodu Ziołowego, w lipcu 2016 roku, pobrano do badań w laboratorium po trzy osobniki każdego z badanych gatunków: *Polemonium caeruleum* i *Ostericum palustre*. W terenie, całe żywe osobniki wykopano wraz z monolitami gleby o powierzchni kwadratu 625 cm^2 (25 cm x 25 cm), tak aby nie uszkodzić części podziemnej. W laboratorium, osobniki podzielono na części nadziemne i podziemne, wysuszono je powietrznie i zalano metanolem. Cyklicznie, co 7 dni, zlewano ekstrakty i ponownie zalewano metanolem, aż do uzyskania bezbarwnego koloru rozpuszczalnika z rośliną. W marcu 2017 roku zakończono zlewanie metanolu, a tak uzyskany ekstrakt zagęszczono na wyparce próżniowej Buchi, model rotavapor R–100, do całkowitego odparowania rozpuszczalnika.

Kolejny etap polegał na przeprowadzeniu analizy za pomocą GC/MS – chromatografii gazowej ze spektrometrem masowym. Przygotowane po 10 mg ekstraktów z części podziemnej i nadziemnej dwóch różnych gatunków rozpuszczono w 1 ml pirydyny i do tego roztworu dodano 200 µl N,O–bis(trimetylosililo)–trifluoroacetamidu (BSTFA). Mieszaninę ogrzewano w temperaturze 60°C przez 30 minut. Analizę chromatograficzną sililowanych ekstraktów prowadzono z wykorzystaniem chromatografu gazowego Agilent 7890A wyposażonego w detektor masowy Agilent 5975C. Rozdziału dokonano na kolumnie kapilarnej HP–5MS.

Ekstrakty analizowano również w testach aktywności biologicznej w laboratoriach Uniwersytetu Mississippi w USA. W badaniach uwzględniono ich działanie na linie komórkowe pod względem aktywności antybakteryjnej, antymalarycznej i antyoksydacyjnej oraz przeciwwirusowej, przeciwpasożytniczej, przeciwgrzybicznej i przeciwnowotworowej.

4. Wyniki badań i dyskusja

Wyniki badań wykazały zróżnicowanie związków chemicznych występujących w częściach nadziemnych (łodygi, liście, kwiaty) oraz w częściach podziemnych (korzenie, kłącza) badanych gatunków (Tab. 7.1–7.4).

4.1. Związki chemiczne występujące w części nadziemnej i podziemnej *Polemonium caeruleum*

W części nadziemnej *Polemonium caeruleum* zidentyfikowano cztery grupy związków (97%). Są to: węglowodany (94,37%), estry kwasów tłuszczowych (1,35%),

aminokwasy (0,19%) i kwasy karboksylowe (1,23%). Węglowodany reprezentowane są głównie przez α- i β-Glukopiranozę oraz β- Fruktofuranozę (Tab. 7.1). Estry kwasów tłuszczowych wyróżnia ester metylowy kwasu palmitynowego, linolowego i oleinowego (Tab. 7.1). Kwas oleinowy jest źródłem silnych przeciwutleniaczy, a jego działanie antyoksydacyjne niszczy wolne rodniki odpowiedzialne za przedwczesne starzenie się organizmów (Wiechula 2013). Właściwości te przyczyniają się również do wzmocnienia układu odpornościowego. Obniża on także wysokie ciśnienie tętnicze, poziom „złego" cholesterolu i jest stosowany w chorobach miażdżycy i sercowo-naczyniowych. Kwas oleinowy wpływa na poprawę pamięci i koncentracji, jest podawany w przypadku choroby Alzhaimera (Di Marzio i in. 2016).

Tabela 7.1. Związki chemiczne występujące w części nadziemnej *Polemonium caeruleum*

GRUPY ZWIĄZKÓW	% of TIC
Węglowodany	94,37
β-Glukopiranoza	27,56
α-Glukopiranoza	24,04
β-Fruktofuranoza	22,15
A-D-metylofuranozyd	11,90
α-Fruktofuranoza	3,03
Sacharoza	2,51
Estry kwasów tłuszczowych	1,35
Ester metylowy kwasu palmitynowego	55,55
Ester metylowy kwasu linolowego	34,07
Ester metylowy kwasu oleinowego	10,37
Aminokwasy	0,19
Kwas γ-aminobutanowy	68,42
Alanina	31,58
Kwasy karboksylowe	1,23
Kwas jabłkowy	44,71
Kwas mlekowy	18,70
Kwas 4-hydroksybenzoesowy	15,45
Kwas bursztynowy	10,57
Inne związki	2,98

Źródło: badania własne.

W części nadziemnej *Polemonium caeruleum*, wśród aminokwasów najmniejszy udział ma alanina, a największy kwas γ-aminobutanowy (GABBA) (Tab. 7.1), który pełni rolę neuroprzekaźnika o działaniu inhibicyjnym w układzie nerwowym (Zilberter i in. 2010).

Kwasy karboksylowe reprezentuje kwas jabłkowy, mlekowy, 4-hydroksybenzoesowy i bursztynowy (Tab. 7.1).

W części podziemnej *Polemonium caeruleum* określono występowanie czterech grup związków (89,44%), z których największy udział, podobnie jak w przypadku części nadziemnej, osiągają węglowodany (65,61%) (Tab. 7.2). Ich udział w części podziemnej, w odróżnieniu od części nadziemnej, obok zmienionego składu cukrów (α-Fruktopyranoza, β-Frucktopiranoza), wyróżnia głównie obecność kwas chinowego (3,37%).

Aminokwasy (5,20%) występujące w części podziemnej reprezentują również inne związki chemiczne niż w części nadziemnej, wśród których największy udział ma kwas piroglutaminowy, a mniejszy seryna i prolina (Tab. 7.2). Seryna, jako składnik protein wspomaga układ odpornościowy i bierze aktywny udział w metabolizmie tłuszczy oraz produkcji cukrów i białek. Niweluje ona związki tłuszczowe, co jest istotne z punktu widzenia profilaktyki niedrożności naczyń krwionośnych. Ponadto, wraz z glicyną jest ona odpowiedzialna za wytwarzanie elementów kwasów nukleinowych oraz jest jednym ze składników tworzących osłonkę mielinową komórek nerwowych (Sacchi i in. 2012).

Kwasy karboksylowe (18,54%) w części podziemnej *Polemonium caeuleum* reprezentuje kwas jabłkowy, fumarowy, bursztynowy, kwas 2,3,4-trihydroksymasłowy, glicerynowy, glikolowy i mlekowy (Tab. 7.2). Kwas mlekowy pobudza wydzielanie soku żołądkowego, zakwasza treść pokarmową, co powoduje sprawne trawienie polisacharydów i białek. Spowalnia rozwój bakterii patogennych i drożdżaków, a ułatwia wzrost bakterii symbiotycznych (Badet, Thebaud 2008). W XIX wieku kwas ten wykorzystywano do leczenia gruźlicy, a w latach 40. i 50. XX wieku stwierdzono, że hamuje rozwój prątków Kocha. Ponadto jest on skutecznym inhibitorem wobec: *Bacillus* coagulans, *Mycobacterium tuberculosis, Pseudomonas* sp., *Escherichia coli* i *Salmonella* sp. (Badet, Thebaud 2008).

Tabela 7.2. Związki chemiczne występujące w części podziemnej *Polemonium caeruleum*

GRUPY ZWIĄZKÓW	% of TIC
Węglowodany	65,61
β-Glukopiranoza	25,30
β-Frucktopiranoza	13,88
Sacharoza	13,46
α-Glukopiranoza	12,95
α-Fruktopyranoza	3,81
Kwas chinowy	3,37
Aminokwasy	5,20
Kwas piroglutaminowy	24,23
Seryna	15,00
Prolina	10,00
Estry kwasów tłuszczowych	0,09
Kwasy karboksylowe	18,54
Kwas jabłkowy	51,40
Kwas kumarynowy	32,79
Kwas bursztynowy	7,60
Kwas 2,3,4-trihydroksymasłowy	5,28
Kwas glicerynowy	1,51
Kwas glikolowy	1,13
Kwas mlekowy	0,32
Inne związki	10,56

Źródło: badania własne

4.2. Związki chemiczne występujące w części nadziemnej i podziemnej *Ostericum palustre*

W części nadziemnej *Ostericum palustre* zidentyfikowano pięć grup związków (93,32%), w tym: węglowodany (63,34%), aminokwasy (16,21%), kwasy hydroksylowe (12,86%), kwasy karboksylowe (0,55%) i kwasy fenolowe (0,36%).

Wśród węglowodanów największy udział ma kwas chinowy i sacharoza, a najmniejszy α-D-glukopiranoza (Tab. 7.3). Kwas chinowy wykazuje działanie antybakteryjne, antyoksydacyjne, przeciwgrzybiczne, przeciwwirusowe i przeciwnowotworowe. Kwas ten przeciwdziała akumulacji tłuszczu, powoduje spadek cholesterolu i trójglicerydów w wątrobie, osoczu i mięśniu sercowym. Ma duże

znaczenie w prewencji chorób nowotworowych i jako środek przeciwzapalny o silnych właściwościach żółciopędnych (Ramawat, Mérillon 2013).

Tabela 7.3. Związki chemiczne występujące w części nadziemnej *Ostericum palustre*

GRUPY ZWIĄZKÓW	% of TIC
Węglowodany	63,34
Kwas chinowy	26,98
Sacharoza	21,55
B-Fructofuranoza	18,15
β-Glukoza	11,70
α-D-Glukopiranoza	7,34
Aminokwasy	16,21
Kwas piroglutaminowy	41,64
Walina	10,55
Izoleucyna	6,04
Kwas asparaginowy	6,04
Prolina	5,55
Kwasy hydroksylowe	12,86
Kwas szikimowy	50,39
Kwas jabłkowy	48,21
Kwas glicerynowy	0,78
Kwas mlekowy	0,31
Kwas glikolowy	0,31
Kwasy dikarboksylowe (karboksylowe)	0,55
Kwas bursztynowy	38,18
Kwas malonowy	32,73
Kwas fumarowy	29,09
Kwasy fenolowe	0,36
Kwas chlorogenowy	58,33
(E)-Kwas kawowy	41,67
Inne związki	6,68

Źródło: badania własne.

Wśród aminokwasów największy udział osiąga kwas piroglutaminowy, a najmniejszy – prolina. Razem z nimi, w grupie aminokwasów występują: walina, izoleucyna i kwas asparaginowy (Tab. 7.3). Kwasy hydroksylowe reprezentuje kwas szikimowy, jabłkowy, glicerynowy, mlekowy i glikolowy (Tab. 7.3). Kwas szikimowy należy do grupy kwasów alfa-hydroksylowych (AHA). Wykazuje on silne dzia-

łanie bakteriobójcze, przeciwzapalne i przeciwbólowe. Jest też skutecznym środkiem hamującym namnażanie bakterii *Propionibacterium acnes* (Ramawat, Mérillon 2013).

Kwasy karboksylowe reprezentuje kwas bursztynowy, malonowy i fumarowy (Tab. 7.3). Kwas fumarowy jest nienasyconym kwasem dikarboksylowym o niskiej rozpuszczalności w wodzie. W medycynie wykorzystywany jest w leczeniu chorób skóry. Estry tego kwasu od 1959 roku są stosowane w leczeniu łuszczycy (Brewer, Rogers 2007). Osoby z chorobą łuszczycy, nie produkują kwasu fumarowego, ze względu na zaburzenia hormonalne (Engel i in. 2008). Ostatnio, prowadzi się również badania nad skutecznością kwasu fumarowego w leczeniu stwardnienia rozsianego (Ramawat, Mérillon 2013).

Kwasy fenolowe (0,36%) w łodydze *Ostericum palustre* są reprezentowane przez kwas chlorogenowy i kawowy (Tab. 7.3). Kwas chlorogenowy wykazuje wysoką aktywność przeciwutleniającą. Kwas chlorogenowy i kawowy wykazują zdolność do blokowania kancerogennych związków, które tworzą się w trakcie przemian wybranych związków rakotwórczych, np. 4-nitrochinolino-1-tlenków. Stwierdzono, że pochodna kwasu kawowego posiada cytotoksyczne właściwości w stosunku do komórek raka okrężnicy i białaczki (Kołodziejczyk-Czepas i in. 2015). Ponadto kwas kawowy wykazuje silne właściwości przeciwbakteryjne w stosunku do bakterii Gram-dodatnich (*Bacillus* sp.). Kwasy fenolowe zaliczane są do metabolitów wtórnych, które wykazują korzystny wpływ na organizm ludzki. Odznaczają się aktywnością antyoksydacyjną i, razem z witaminą C czy karotenoidami, zaliczane są do grupy naturalnych związków żywnościowych o charakterze przeciwutleniaczy. Ich właściwości antyoksydacyjne polegają na blokowaniu wolnych rodników, likwidacji aktywnych form tlenu oraz chelatowaniu jonów żelaza i miedzi. Organizm człowieka jest w ten sposób chroniony przed oksydacyjnym stresem, co wiąże się z ograniczeniem rozwoju komórek rakotwórczych i miażdżycy (Goleniowski i in. 2013).

W części podziemnej *Ostericum palustre* określono występowanie sześciu grup związków, z których największy udział osiągają węglowodany (59,77%), a najmniejszy kwasy cynamonowe (0,12%).

Aminokwasy są reprezentowane przez kwas piroglutaminowy, kwas asparaginowy, alaninę i walinę (Tab. 7.4). Walina bierze aktywny udział w syntezie witaminy B5 i wpływa na prawidłową pracę układu nerwowego. Ma ona istotne znaczenie w utrzymaniu prawidłowego funkcjonowania wątroby i pęcherzyka żółciowego oraz regulacji poziomu glukozy w organizmie. Walina reguluje też poziom cukru we krwi, działa jako środek pobudzający i przyczynia się do wzrostu mięśni (Pikuła 2003).

Tabela 7.4. Związki chemiczne występujące w części podziemnej *Ostericum palustre*

GRUPY ZWIĄZKÓW	% of TIC
Węglowodany	59,77
Beta-D-Glukoza	21,50
Sacharoza	17,75
A-D-metylofuranozyd	15,05
α-Glukoza	14,57
Aminokwasy	5,36
Kwas piroglutaminowy	42,35
Kwas asparaginowy	18,28
Alanina	12,69
Walina	8,21
Kwasy tłuszczowe i estry kwasów tłuszczowych	4,91
Ester metylowy kwasu linolowego	48,68
Ester metylowy kwasu palmitynowego	23,01
Ester metylowy kwasu oleinowego	9,37
Kwas linolowy	5,70
Kwasy hydroksylowe	17,43
Kwas cytrynowy	53,93
Kwas jabłkowy	44,63
Kwas mlekowy	0,63
Kwas glikolowy	0,40
Kwas glicerynowy	0,40
Kwasy dikarboksylowe (karboksylowe)	1,49
Kwas fumarowy	32,88
Kwas bursztynowy	32,21
Kwas maleinowy	26,17
Kwas malonowy	8,05
Kwasy cynamonowe	0,12
Ester metylowy kwasu p-hydroksycynamonowego	58,33
(E)-Kwas kawowy	41,67
Inne związki	10,92

Źródło: badania własne.

Kwasy tłuszczowe i estry kwasów tłuszczowych stanowią 4,91% i są reprezentowane przez kwas linolowy oraz estry kwasu linolowego, oleinowego i palmitynowego (Tab. 7.4). Sprzężony kwas linolowy wykazuje działanie przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe i działa na układ immunologiczny. Hamuje on procesy

tworzenia się nowotworów jelita grubego, skóry, prostaty i żołądka (Russell i in. 2007).

Inne związki czynne występujące w części podziemnej *Ostericum palustre* to kwasy hydroksylowe (17,43%), wśród których największy udział osiąga kwas cytrynowy, a najmniejszy kwasy glicerynowe i glikolowe. Ponadto w grupie tej występuje kwas mlekowy, jabłkowy i cytrynowy (Tab. 7.4).

W przemyśle farmaceutycznym kwas jabłkowy wykorzystywany jest jako regulator kwasowości. Kwas ten potęguje właściwości przeciwutleniaczy, a w środowisku kwaśnym spowalnia procesy wzrostu grzybów i bakterii (przy pH 3,98 hamuje rozwój gronkowca złocistego *S. aureus*). Ponadto wzmaga perystaltykę jelit i pobudza wydzielanie soku jelitowego i śliny (Goldberg i in. 2006).

Wśród kwasów karboksylowych (1,49%) największy udział ma kwas fumarowy, a najmniejszy kwasy malanowy. W grupie tej wyróżnia się również kwas maleinowy i bursztynowy (Tab. 7.4). Kwas bursztynowy odznacza się silnymi właściwościami antytoksycznymi, antywirusowymi, przeciwzapalnymi i regenerującymi. Normalizuje on pracę wszystkich tkanek i narządów, a szczególnie mózgu oraz ma pozytywny wpływ na układ nerwowy i stymuluje pracę wątroby i nerek. Kwas bursztynowy przyczynia się też do produkcji insuliny, co jest istotne w chorobie cukrzycy. Ma pozytywny wpływ na torbiele jajnika, mięśniaki macicy oraz inne typy nowotworów (Ramawat, Mérillon 2013).

Ostatnią grupę związków stanowią kwasy cynamonowe (0,12%), wśród których występuje kwas kawowy i kwas p-hydroksycynamonowy (Tab. 7.4).

Literatura przedmiotu badań wskazuje również na obecność w badanych taksonach flawonoidów, olejków eterycznych i saponin (Light i in. 2004; Golyak 2008). Związki te wykazują wysoką aktywność biologiczną, przeciwutleniającą, przeciwnowotworową, przeciwzapalną, przeciwmiażdżycową, moczopędną, przeciwgrzybiczą, przeciwwirusową i przeciwbakteryjną oraz przeciwarytmiczną i detoksykującą (Król i in. 2013; Augustin i in. 2011). W testach aktywności biologicznej, na Uniwersytecie Mississippi w USA, u badanych gatunków potwierdzono istotne działanie antybakteryjne i antymalaryczne oraz właściwości przeciwpasożytnicze i przeciwnowotworowe, co obecnie stanowi podstawę zgłoszenia patentowego. Właściwości lecznicze obu gatunków potwierdzają również patenty zgłoszone przez innych autorów (Wang 2012; Park 2014; Lv 2015; Yu 2015; Zhong 2015; Zhang 2016; Zheng 2016).

Podziękowania

Badania sfinansowano ze środków na naukę MNiSW w ramach pracy Nr S/WBiIŚ/5/2016.

Literatura

Augustin J. M., Kuzina V., Andersen S. B., Bak S. 2011. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. Phytochemistry, 72(6): 435–457.

Badet C., Thebaud N. B., 2006. Ecology of Lactobacilli in the Oral Cavity: A Review of Literature. Open Microbiol. J., 2: 38–48.

Blumenthal M. 2000. Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs. Integrativ Medicine Communications, Newton, MA.

Blumenthal M. 2003. The ABC clinical guide to herbs. American Botanical Council, Austin, Texas.

Borkowski B. 1974. Zarys farmakognozji. Wyd. IE. PZWL, Warszawa.

Brewer L., Rogers S. 2007. Fumaric acid esters in the management of severe psoriasis. Clin. Exp. Dermatol., 32: 246–249.

Broda B. 2002. Zarys botaniki farmaceutycznej. PZWL, Warszawa.

Di Marzio L., Ventura C. A., Cosco D., Paolino D., Di Stefano A., et al. 2016. Nanotherapeutics for anti–inflammatory delivery. J Drug Deliv. Sci. Tec., 32: 174–191.

Engel R., Marang L., Straathof A.J. J. 2011. Development of a low pH fermentation strategy for fumaric acid production by *Rhizopus oryzae*. Enzyme Microb. Tech., 48: 39–47.

European Pharmacopoeia. 2001. Fourth Edition, Council of Europe, Strasburg.

Farmakopea Polska. 2002. VI (FPVI), Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa.

Goldberg I., Rokem J. S., Pines O. 2006. Organic acids: old metabolites, new themes. J. Chem. Technol. Biot. 81(10): 1601–1611.

Goleniowski M., Bonfill M., Cusido R., Palazón J. 2013. Phenolic AIDS. [W:] Ramawat K. G., Mérillon J-M (red.), Natural Products. Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes. Springer Berlin Heidelberg: 1951–1973.

Golyak Yu A., Khishova O. M., Dubashinskaya N. V., Kukhareva L. V. 2008. Quantitative determination of total triterpenoid saponins in *Polemonium caeruleum* rhizomes and roots. Pharm. Chem. J., 42(8): 456–459.

Kaźmierczakowa R., Bloch-Orłowska J., Celka Z., Cwener A., Dajdok Z., Michalska-Hejduk D., Pawlikowski P., Szczęśniak E., Ziarnek K. 2016. Polska czerwona lista paprotników i roślin kwiatowych. Polish red list of pteridophytes and flowering plants. Instytut Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk, Kraków.

Kaźmierczakowa R., Zarzycki K., Mirek Z. 2014. Polska Czerwona Księga Roślin. Paprotniki i rośliny kwiatowe. Wyd. III uaktualnione i rozszerzone. Instytut Ochrony Przyrody PAN, Kraków.

Koczwara M. 1966. Farmakognozja ogólna i szczegółowa. Kraków.

Kohlmünzer S. 2000. Farmakognozja. PZWL, Warszawa.

Kohlmünzer S. 2007. Farmakognozja. Podręcznik dla studentów farmacji. Wyd. V, PZWL, Warszawa.

Kołodziejczyk-Czepas J., Szejk M., Pawlak A., Żbikowska H.M. 2015. Właściwości przeciwutleniające kwasu kawowego i jego pochodnych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 3: 5–17.

Król S. K., Skalicka-Woźniak K., Kandefer-Szerszeń M., Stepulak A. 2013. Aktywność biologiczna i farmakologiczna olejków eterycznych w leczeniu i profilaktyce chorób infekcyjnych. Postępy Hig. Med. Dośw., 67: 1000–1027.

Kubikowski P., Kostowski W. 1994. Farmakologia. PZWL, Warszawa.

Light M. E., Staden J., Sparg S.G. 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. J Ethnopharmacol, 94: 219–243.

Lv Y. 2015. Traditional chinese medicine composition for treating qi and blood deficiency-type pressure sore. Faming Zhuanli Shenqing, CN 105125723, A 20151209.

Maltseve A. A., Brezhneva T. A., Sorokina A. A., Slivkin A. I., Karlov P. M., Chistyakova A. S., Kazmina O. M. 2014. Development of method chromatographic determination of polimoniozids. Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protsessy 14(4): 684–690.

Matławska I. 2006. Farmakognozja. Podręcznik dla studentów Farmacji. Wyd. Naukowe Akademii Medycznej w Poznaniu, Poznań.

Mirek Z., Piękoś-Mirkowa H. 2008. Czerwona Księga Karpat Polskich. Rośliny naczyniowe. Instytut Botaniki im. W. Szafera i Instytut Ochrony Przyrody PAN, Kraków.

Muszyński J. 1927. Farmakognozja. Wilno.

Mutschler E. 2004. Farmakologia i toksykologia. Wyd. Medyczne Urban & Partner, Wrocław.

Myslennikov P. V., Chupakhina G.N., Skrypnik L. N. 2014. The content of phenolic compounds in medicinal plants of a botanical garden (Kaliningrad oblast). Biology Bulletin (Moscow, Russian Federation), 41(2): 133–138.

Obwieszczenie Ministra Środowiska z dnia 30 października 2014 roku. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Środowiska w sprawie siedlisk przyrodniczych oraz gatunków będących przedmiotem zainteresowania Wspólnoty, a także kryteriów wyboru obszarów kwalifikujących się do uznania lub wyznaczenia jako obszary Natura 2000. Dz. U. 2014, poz. 1713.

Park S. H. 2014. Hydrogel packs containing medicinal plant extracts. Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo, KR 2014069456, A 20140610.

Pikuła S. 2003. Białka – struktura, synteza, funkcje. http://fundacjarozwojunauki.pl/res/Tom1/Nauka swiatowa i polska. Rozdzial03.pdf.

Ramawat K .G., Mérillon J-M. 2013. Natural Products. Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes. Springer Berlin Heidelberg.

Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 października 2014 roku w sprawie ochrony gatunkowej roślin. Dz. U. 2014, poz. 1409.

Russell J. S., McGee S. O., Ip M. M., Kuhlmann D., Masso-Welch P. A. 2007. Conjugated linoleic acid induces mast cell recruitment during mouse mammary gland stromal remodeling. J Nutr., 137(5): 1200–1207.

Sacchi S., Caldinelli L., Cappelletti P., Pollegioni L. 2012. Structure – function relationships in human d-amino acid oxidase. Amino Acids, 43(5): 1833–1850.

Schmidt J. A. 1811. Lehrbuch der Materia medica. Wiedeń.

Wang S. 2012. Ointment containing basil oil for treating scald. Faming Zhuanli Shenqing, CN 102755500, A 20121031.

Wichtl M. 2004. Herbal drugs and phytopharmaceticals. Medpharm, Stuttgart.

Wiechula D. 2012. Skin diseases associated with the cosmetics use. Przegląd Dermatologiczny, 100(6): 392–399.

Yu Z. 2015. A chinese medicinal composition for treating infectious conjunctivitis. Faming Zhuanli Shenqing, CN 104940474, A 20150930.

Zarzycki K., Trzcińska-Tacik H., Różański W., Szeląg Z., Wołek J., Korzeniak U. 2002. Ekologiczne liczby wskaźnikowe roślin naczyniowych Polski. Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN, Kraków.

Zhang Y. 2016. Traditional chinese medicinal composition for treating hemorrhoids. Faming Zhuanli Shenqing, CN 105343363, A 20160224.

Zheng C. 2016. A Chinese medicine for treating pneumonia caused by dust and production method thereof. Faming Zhuanli Shenqing, CN 105213835, A 20160106.

Zhong C. 2015. Medicated liquor for treating rheumatism and manufacture method thereof. Faming Zhuanli Shenqing, CN 104721656, A 20150624.

Zilberter Y., Zilberter T., Bregestovski P. 2010. Neuronal activity in vitro and the in vivo reality: the role of energy homeostasis. Trends Pharmacol. Sci. 31(9): 394–401.

Zych M., Michalska B., Krasicka-Korczyńska E. 2014. Myophily in the critically endangered umbelliferous plant *Ostericum palustre* Besser (Apiaceae). Plant Syst. Evol., 300: 187–196.

http://ziolowy zakatek.pl.

8 Zmiany zachodzące w strukturach zbiorowisk grzybów mikroskopijnych w rozkładającej się ściole spod świerka pospolitego *Picea abies* (L.) H. Karst

Zofia **Tyszkiewicz**

Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska
Katedra Inżynierii Rolno-Spożywczej i Kształtowania Środowiska

ul. Wiejska 45, 15–351 Białystok
e-mail: z.tyszkiewicz@pb.edu.pl

Streszczenie: Prace, których wyniki zawarto w niniejszym rozdziale, prowadzono w celu określenia i porównania zbiorowisk grzybów mikroskopijnych zasiedlających ektopróchnicę spod świerka pospolitego *Picea abies* (L.) H. Karst, rosnącego w Arboretum w Kopnej Górze (Puszcza Knyszyńska). Próby do analizy mikologicznej pobrano w okresie wiosennym i jesiennym 2004 i 2005 roku oraz wiosną 2008 roku. Poza określeniem struktur ilościowo-jakościowych zbiorowisk grzybów obliczono także podobieństwo między nimi oraz dominację najliczniej występujących gatunków. W sumie wyizolowano 93 gatunki grzybów i 1 060 kolonii. Do gatunków o największej frekwencji należały: *Chloridium botryoideum*, *Cladosporium herbarum*, *Hormonema dematioides*, *Mortierella isabellina*, *Penicillium commune*, *P. purpurogenum*, *Pestalotia* sp., *Pseudeurotium ovale*, *Trichoderma koningii* i *T. polysporum*. Szczególnie dużą liczebnością jesienią 2004 i wiosną 2005 roku cechował się *Trichoderma polysporum*. Zbiorowiska grzybów zasiedlające ściołę świerka w trakcie jej rozkładu, mimo niewątpliwych podobieństw, cechowały się wyraźnym zróżnicowaniem struktur ilościowo-jakościowych. Podobieństwo między zbiorowiskami nie było duże i kształtowało się od 2% do 33%. Wynika stąd, że rozkładający się materiał organiczny spod świerka zasiedlały zmieniające się w czasie zbiorowiska *micromycetes*. Analiza składu jakościowego tych zbiorowisk wskazuje, że większość zidentyfikowanych gatunków to saprotrofy, których podstawowym zadaniem w środowisku jest rozkład substancji organicznej. Ponadto zaobserwowano obecność grzybów patogenicznych, do których należały, między innymi: *Alternaria* spp., *Colletotrichum* spp., *Fusarium* spp., *Nectria* sp., *Phialophora* spp., *Phoma* spp., *Phytophtora* sp., jednak ich liczebność nie była wysoka.

Słowa kluczowe: *micromycetes*, ektopróchnica

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 115-126

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

Ektopróchnica, zwana również ściołą, próchnicą nadkładową oraz poziomem organicznym, jest najbardziej aktywnym biologicznie poziomem większości gleb leśnych. Powstaje z corocznego opadu roślinnego gromadzącego się na powierzchni utworów mineralnych tworzących te gleby. Ektopróchnica jest środowiskiem życia bardzo licznej fauny glebowej i flory bakteryjnej, ale szczególnie licznie reprezentowane są w niej grzyby (Bednarek i in. 2004). Największa aktywność mikroorganizmów notowana jest w powierzchniowych częściach poziomu organicznego, co wiąże się z obecnością świeżego opadu o dużej zawartości rozkładalnych substancji (Kajak 2016).

Zarówno opad roślinny tworzący zasadniczą część materii organicznej na dnie lasu, jak również powstająca z niego ektopróchnica, ulegają dynamicznym procesom przebudowy i rozkładu (Kowalkowski, Jóźwiak 2003; Łabaz, Gałka 2010). Do najważniejszych czynników decydujących o sposobie i kierunku rozkładu materii organicznej należą warunki klimatyczne, właściwości gleby, jakość rozkładanego substratu oraz skład i liczebność organizmów, które w tym procesie uczestniczą (Cornwell 2008; Zhang i in. 2008). Dlatego też sposób wykształcenia próchnicy nadkładowej zależy od warunków siedliskowych, przede wszystkim od troficzności siedliska (Bednarek i in. 2004). Jednocześnie zawartość materii organicznej jest skorelowana z ilością i aktywnością drobnoustrojów biorących udział w rozkładzie celulozy, chityny, lignin, skrobi i pektyn. Stąd też skład zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających ściółkę w znacznym stopniu zależy od składu chemicznego substratu a dominującymi organizmami uczestniczącymi w przemianach związków organicznych w przyrodzie są grzyby (Kucharski i in. 2015). Organizmy te, wraz z innymi drobnoustrojami i roślinami, decydują o aktywności biochemicznej i produktywności biologicznej niemal wszystkich ekosystemów (Paul, Clark 2000). Grzyby rozkładają zarówno proste związki, jak również uczestniczą w przemianach substancji o złożonej budowie. Wydzielają szerokie spektrum enzymów pozakomórkowych, dzięki czemu mogą rozkładać polimery roślinne: celulozę, hemicelulozę, ligninę i szereg innych; osiągają przy tym znaczną biomasę (Romani i in. 2006).

Zespół grzybów zasiedlających ektopróchnicę może być wskaźnikiem stopnia zaawansowania rozkładu. Charakterystyczne jest też, że występuje wiele gatunków pełniących jednakową funkcję (np. rozkładających celulozę), ale różniących się wymaganiami środowiskowymi. Mimo więc potencjalnych możliwości rozkładania różnych substancji przez monokultury mikroorganizmów, wykształca się ścisła specjalizacja środowiskowa (Kajak 2016). Współpraca mikroorganizmów i roślin wyższych zazwyczaj doprowadza do pewnego optymalnego stanu równowagi bio-

logicznej, tzw. homeostazy, która jednak może być zakłócona. Jednymi z najważniejszych elementów wpływających na homeostazę, są wzajemne zależności między poszczególnymi grupami drobnoustrojów oraz charakter sukcesji mikrobiologicznej. Wyeliminowanie czy ograniczenie działalności jakiegoś ogniwa łańcucha mikrobiologicznego najczęściej narusza cały łańcuch żywieniowy (Kucharski i in. 2015). Zmiany te prowadzą jednocześnie do zmian w strukturach mikroorganizmów zasiedlających rozkładaną materię organiczną.

Zainteresowanie opisanymi zagadnieniami przyczyniło się do podjęcia pracy, której celem było określenie i porównanie zbiorowisk grzybów mikroskopijnych rozwijających się w ektopróchnicy spod świerka pospolitego [*Piecea abies* (L.) H. Karst] rosnącego w Arboretum w Kopnej Górze (Puszcza Knyszyńska).

2. Teren i obiekt badań

Badania prowadzono w środkowej części Puszczy Knyszyńskiej na terenie Nadleśnictwa Supraśl. Próby pochodziły z Arboretum w Kopnej Górze, a dokładniej z południowo-zachodniej jego części. Badaniami objęto ściołę pochodzącą spod świerka pospolitego [*Picea abies* (L.) H. Karst] w wieku około 60 lat, wchodzącego w skład lasu mieszanego świeżego (Łaziuk 2000).

Puszcza Knyszyńska leży w północno-wschodniej Polsce i zajmuje powierzchnię około 127 tys. ha. Wyróżnia się specyficznym charakterem szaty roślinnej, co wynika z jej położenia geograficznego i odrębności klimatycznej, ponadto jest to jeden z najmniej zniszczonych kompleksów leśnych w kraju (Czerwiński 1995; Łaska 2006).

3. Materiał i metody

Próby ektopróchnicy (ścioły) były pobierane pięciokrotnie, w latach 2004 i 2005 w okresie wiosennym i jesiennym oraz wiosną 2008 roku. Pobierając materiał organiczny do badań laboratoryjnych, przestrzegano zasad opisanych w licznych publikacjach (Kowalkowski 1994; Kabata-Pendias i in. 1995; Namieśnik i in. 1995). Na powierzchni terenu pod wybranym drzewem świerka pospolitego, rozmieszczono 8 chwytaczy o wymiarach: 200×200×20 mm. Dno ich było wykonane z siatki o oczkach 1,5 mm (Isidorov i in. 2010). W każdym sezonie badawczym materiał do analizy pozyskiwano z chwytaczy i przewożono do laboratorium, gdzie

po dokładnym wymieszaniu, pobierano mniejsze porcje (według zaleceń metody). Pozostały materiał wracał na chwytacze rozmieszczone na powierzchni badawczej. Dzięki temu można było prześledzić zmiany zachodzące wraz z upływem czasu w zbiorowiskach grzybów dokonujących dekompozycji materii organicznej tworzącej ektopróchnicę.

Izolację grzybów z ektopróchnicy przeprowadzono według metody Mańki i Gierczak (1968; Mańka 1974) z drobnymi modyfikacjami wprowadzonymi przez Kowalskiego (1974). W celu określenia dominacji gatunkowej grzybów, posłużono się formułą zaproponowaną przez Trojana (1981) i Sierotę (1982).

$$D = 100 \cdot \frac{Sa}{S}$$

gdzie:
D – współczynnik dominacji
Sa – suma izolatów danego gatunku grzyba
S – suma izolatów badanego zbiorowiska grzybów glebowych

Podobieństwo między zbiorowiskami grzybów określono przy pomocy współczynnika Jaccarda (Zak, Willig 2004).

$$JI = \frac{j}{a + b - j}$$

gdzie:
j – liczba gatunków wspólnych dla obu zbiorowisk
a – liczba gatunków występujących wyłącznie w jednym z analizowanych zbiorowisk
b – liczba gatunków występujących wyłącznie w drugim z porównywanych zbiorowisk

4. Wyniki

W wyniku badań ektopróchnicy, spod świerka zwyczajnego zidentyfikowano 93 różne gatunki *micromycetes* oraz 1 060 ich kolonii. Liczba gatunków tworzących zbiorowiska w poszczególnych sezonach badawczych wynosiła od 21 (jesienią 2004 roku) do 32 gatunków (wiosną 2004 roku). W zasadzie liczba gatunków grzybów wchodzących w skład otrzymanych zbiorowisk była do siebie podobna i wynosiła niewiele ponad 20 gatunków. Jedynie na początku prowadzonych badań, tj. wiosną 2004 roku otrzymano 32 różne gatunki grzybów; także na zakończenie badań (wiosną 2008 roku), zbiorowisko było tworzone przez 28 gatunków grzybów. W pozostałych trzech sezonach badawczych otrzymywano od 21 do 24 gatunków grzybów (Tab. 8.1).

Natomiast liczba izolatów (kolonii) grzybów tworzących poszczególne zbiorowiska wynosiła od 120 jesienią 2005 roku do 372 jesienią 2004 roku (Tab. 8.1).

Tabela 8.1. Liczba gatunków i izolatów grzybów stwierdzonych w analizowanej ektopróchnicy

Termin badań		Liczba gatunków	Liczba izolatów
2004	wiosna	32	189
	jesień	21	372
2005	wiosna	24	241
	jesień	22	120
2008	wiosna	28	138
Razem		93	1060

Większość gatunków tworzących analizowane zbiorowiska to kosmopolityczne saprotrofy, czyli grzyby występujące w różnych ekosystemach zajmujące się rozkładem martwej materii organicznej. Wśród nich zaobserwowano też obecność grzybów patogenicznych, mogących wywołać proces chorobowy u roślin. Należały do nich, między innymi: *Alternaria* spp., *Colletotrichum* spp., *Fusarium* spp., *Nectria* sp., *Phialophora* spp., *Phoma* spp., *Phytophtora* sp. Jednak frekwencja ich występowania nie była wysoka i kształtowała się na poziomie od 1 do 5 izolatów.

Spośród 93 gatunków grzybów (Tab. 8.1) zasiedlających analizowany materiał organiczny do analizy dominacji gatunkowej wybrano 13. Cechowały się one wysoką frekwencją przynajmniej w jednym z sezonów badawczych. Niestety, nie odnotowano żadnego gatunku, który wchodziłby w skład wszystkich analizowanych zbiorowisk.

Największą dominacją gatunkową, na poziomie 77,1% jesienią 2004 roku, cechował się *Trichoderma polysporum* (Link ex Pers.) Rifai. Gatunek ten osiągnął też dużą dominację (64,7%) wiosną roku kolejnego. Wspomniany gatunek wchodził również w skład zbiorowiska zasiedlającego ektopróchnicę wiosną 2008 roku. Jego dominacja gatunkowa wynosiła wówczas 21% (Tab. 8.2).

Stosunkowo dużą dominacją gatunkową charakteryzowały się ponadto: *Hormonema dematioides* Melin & Nannf. – niemal 22% jesienią 2005 roku, *Chloridium botryoideum* (Corda) Hughes – 19% wiosną 2004 roku, *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link ex Gray – 17,5% jesienią 2005 roku, *Pestalotia* sp. – 15% jesienią 2005 roku, *Penicillium commune* Thom – 12,7% wiosną 2004 roku, *Pseudeurotium ovale* Stolk – 11,7% jesienią 2005 roku oraz *Trichoderma koningii* Oudem. – 10,9% wiosną 2008 roku (Tab. 8.2).

Tabela 8.2. Dominacja gatunkowa grzybów najliczniej występujących w zbiorowiskach

Gatunek grzyba	Dominacja gatunkowa [%]				
	Termin badań				
	2004		2005		2008
	WIOSNA	JESIEŃ	WIOSNA	JESIEŃ	WIOSNA
Chaetomium aureum Chivers					10,1
Chloridium botryoideum (Corda) Hughes	19,0				
Cladosporium herbarum (Pers.) Link ex Gray	1,0			17,5	
Hormonema dematioides Melin & Nannf.		0,9	7,9	21,7	
Mortierella isabellina Oudem.	5,8	4,6	3,3		
Mucor hiemalis Wehmer		0,3	1,2	5,0	2,9
Penicillium commune Thom	12,7				
Penicillium purpureogenum Stoll	5,8	4,6		3,3	1,4
Pestalotia sp.				15,0	
Pseudeurotium ovale Stolk	4,2	0,9		11,7	
Trichoderma koningii Oudem.	0,5	1,1	1,2		10,9
Trichoderma polysporum (Link ex Pers.) Rifai		77,1	64,7		21,0
Trichoderma viride Pers. ex Gray	4,2	0,1	2,9		

Dominacja gatunkowa pozostałych wybranych gatunków kształtowała się na poziomie od 0,5% – w przypadku *Trichoderma koningii* Oudem. wchodzącego w skład zbiorowiska zasiedlającego ektopróchnicę wiosną 2004 roku, do 10,1% dla *Chaetomium aureum* Chivers wiosną 2008 roku (Tab. 8.3).

Tabela 8.3. Podobieństwo między analizowanymi zbiorowiskami grzybów

Termin badań		Podobieństwo [%]				
		2004		2005		2008
		WIOSNA	JESIEŃ	WIOSNA	JESIEŃ	WIOSNA
2004	WIOSNA	–	17,1	15,8	2,0	14,3
	JESIEŃ	17,1	–	33,3	9,4	15,2
2005	WIOSNA	15,8	33,3	–	11,8	11,8
	JESIEŃ	2,0	9,4	11,8	–	4,6

Podobieństwo między analizowanymi zbiorowiskami grzybów kształtowało się od 2% – między zbiorowiskiem grzybów otrzymanym wiosną 2004 roku a zbiorowiskiem z jesieni 2005 roku, do 33,3% – między zbiorowiskami zasiedlającymi ściołę jesienią 2004 roku i wiosną 2005 roku. W pozostałych sezonach badawczych podobieństwo wynosiło od około 5% do około 17% procent (Tab. 8.3).

5. Dyskusja

Rozkład materii organicznej dostającej się na powierzchnię gleby po śmierci organizmów to ciąg skomplikowanych przemian. Dokonują go liczne mikroorganizmy, a spośród nich szczególne znaczenie w środowisku leśnym mają grzyby mikroskopijne. Są one niezbędnym ogniwem w łańcuchu reakcji doprowadzających zarówno do mineralizacji (rozkładu złożonej substancji organicznej do prostych związków mineralnych), jak i humifikacji, czyli powstawania próchnicy glebowej (Dziadowiec 1990; van Loon, Duffy 2007; Kwaśna 2014; Kucharski i in. 2015). Nic więc dziwnego, że gleba, a szczególnie jej powierzchniowe poziomy, zawierające znaczne ilości substancji organicznej, są środowiskiem życia większości znanych *micromycetes*. Do najczęściej występujących rodzajów grzybów należą, między innymi: *Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium, Mortierella, Mucor, Penicillium, Pythium, Saprolegnia, Trichoderma, Verticillium* (Bis 2003; Kwaśna 2014; Kucharski i in. 2015). Jest to zbieżne z wynikami otrzymanymi w trakcie omawianych badań. Do najliczniej występujących, w analizowanej ektopróchnicy, należały kosmopolityczne gatunki, takie jak: *Chaetomium aureum*, *Chloridium botryoideum*, *Cladosporium herbarium*, *Hormonema dematioides*, *Mortierella isabellina*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium commune*, *P. purpurogenum*, *Pestalotia* sp., *Pseudeurotium ovale*, *Trichoderma koningii* i *T. polysporum*. Jednocześnie należy zaznaczyć, że zbiorowiska grzybów – w skład których wchodziły wymienione gatunki – w kolejnych sezonach badawczych różniły się między sobą. Wniosek ten wypływa zarówno z analizy składu (struktur ilościowych i jakościowych) otrzymanych zbiorowisk, jak i analizy wyników podobieństwa między zespołami mikoorganizmów. Z pewnością jest to związane z tempem i kolejnością przeobrażania poszczególnych związków tworzących rozkładaną materię organiczną. Związki organiczne, wchodzące w skład materiału roślinnego, są mineralizowane z różną szybkością. W początkowym okresie przemian ściółki dużą rolę odgrywają procesy abiotyczne przyczyniające się do wypłukania łatwo rozpuszczalnych związków przez wodę. W dalszej kolejności, następuje mikrobiologiczna mineralizacja różnych substancji

organicznych. Najszybciej mineralizowane są związki łatwo rozpuszczalne: cukry i białka proste, na przykład glukoza jest rozkładana w ciągu 1 dnia. Stosunkowo szybko następuje też rozkład pektyn i skrobi. Znacznie wolniej odbywa się rozkład celulozy i lignin. Pierwsza z wymienionych ulega rozkładowi w ciągu kilku miesięcy, z kolei mineralizacja lignin trwa około roku. Natomiast zawartość białek w przeobrażanym materiale roślinnym przez długi czas jest bardzo duża. Powodem jest, przebiegająca równocześnie z rozkładem, ponowna synteza tych związków (Paul, Clark 2000; Kwaśna 2014; Kucharski i in. 2015).

Paul i Clark (2000) podają, że łatwo degradowalny materiał roślinny jest mineralizowany w okresie 90 dni, natomiast trudno rozkładalny – proces ten trwa nawet 33 lat. Również Kwaśna (2014) wskazuje, że najłatwiej przyswajalne dla mikroorganizmów, a co za tym idzie – także rozkładane, są cukry proste, następnie wielocukry, kwasy organiczne, aminokwasy i białka. Łatwo przyswajalne substancje mogą być pobierane przez wszystkie drobnoustroje. Natomiast związki o skomplikowanej budowie cząsteczki (np. fenole, ligniny) bywają wykorzystywane jedynie przez grupy wyspecjalizowanych mikroorganizmów, do których należy szereg *micromycetes* (Romani i in. 2006).

Zmiany zespołów grzybów zasiedlających analizowaną ściołę związane są niewątpliwie z ilością i jakością rozkładanych związków. Z pewnością zależą również od procesu sukcesji różnych grup mikroorganizmów w czasie rozkładu ektopróchnicy. De Santo i współautorzy (2002) podają, że rozkładający się substrat początkowo zasiedlają głównie grzyby, które tolerują zmienne warunki środowiskowe i efektywnie rozkładają cukry proste oraz wielocukry. Kolonizacji świeżej ściółki dokonują przede wszystkim grzyby anamorficzne (Kajak 2016), których reprezentantów otrzymano w trakcie prowadzonych badań. Dużą aktywnością rozkładu celulozy odznaczają się, między innymi, grzyby reprezentujące rodzaje: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*. W rozkładzie skrobi uczestniczą grzyby należące do rodzajów: *Aspergillus*, *Bacillus*, *Chaetomium*, *Clostridium*, *Fusarium*, *Penicillium*. Pektyny są przeobrażane przez *micromycetes* wchodzące w skład rodzajów: *Aspergillus*, *Botritis*, *Erwinia*, *Fusarium*, *Pseudomonas*. Lignina rozkładana jest przez: *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Penicillium*, *Phialophora*, *Trichoderma*. W rozkład chityny włączają się grzyby reprezentujące rodzaje: *Absidia*, *Aspergillus*, *Bacillus*, *Mortierella*, *Mucor*, *Psudomonas* czy też *Streptomyces* (Kwaśna 2014; Kucharski i in. 2015). Większość z wymienionych rodzajów stwierdzono również w analizowanej ektopróchnicy.

Należy jednak pamiętać, że o przebiegu rozkładu materii organicznej, tworzącej powierzchniowe poziomy organiczne gleb leśnych decydują nie tylko aktywne grupy mikroorganizmów, ale również rodzaj gleby, potencjał oksydoredukcyjny,

czynniki klimatyczne (Kwaśna 2014; Kucharski i in. 2015; Kajak 2016). W rezultacie wykształcają się określone sprzężenia zwrotne i utrwala się specyficzny dla danego zbioru: gleba, mikroorganizmy i szata roślinna – stan dynamicznej równowagi. Istnieją niezaprzeczalne współzależności między poszczególnymi elementami: środowiskiem abiotycznym, mikroorganizmami i roślinami (Skiba 2002). W układzie tym drobnoustroje są poddawane ustawicznym presjom. Zmieniające się czynniki środowiska mogą zakłócić, a nawet zniszczyć naturalną homeostazę. Działanie selekcjonujące może spowodować różnorodne zmiany, np. w aktywności określonych grup przy niezmienionej ogólnej liczbie mikroorganizmów (Kwaśna 2014). Innymi słowy, czynniki środowiska przyrodniczego, wpływając na cechy ekosystemu, wpływają również na skład ilościowy i jakościowy zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających jego składowe. Pod wpływem zmian zachodzących w środowisku, zmienia się w glebie zawartość różnorodnych składników pokarmowych, co z kolei powoduje zmiany w liczebności grzybów. Dlatego też skład zbiorowisk grzybów ulega ciągłym zmianom w zależności od zmian warunków fizycznych i chemicznych środowiska, jak również zmian spowodowanych aktywnością fizjologiczną i metaboliczną poszczególnych populacji – gatunków (Kozdrój 2004). Zmiany te są szczególnie wyraźne i stosunkowo szybko zachodzące w materii organicznej gromadzącej się na powierzchni gleby i ulegającej procesom rozkładu (mineralizacji), reakcjom resyntezy i humifikacji. Nic więc dziwnego, że otrzymane zbiorowiska grzybów cechowały się znacznym zróżnicowaniem i stosunkowo niewielkim podobieństwem. Skład ektopróchnicy, wraz z upływem czasu zmieniał się, ulegając przeobrażeniom powodowanym przez *micromycetes*, które z kolei reagowały na zmieniającą się zawartość substancji rozkładalnych. Ponadto zbiorowiska grzybów swym składem odpowiadały na zmiany warunków środowiska przyrodniczego. Nic więc dziwnego, że odmienne gatunki dominowały w sezonie rozpoczynającym badania (*Chloridium botryoideum*, *Penicillium commune*), a inne – w późniejszych sezonach badawczych. Na szczególną uwagę zasługuje *Trichoderma polysporum*, którego dominacja gatunkowa była szczególnie duża jesienią 2004 roku i wiosną roku kolejnego. Wskazuje to na duże znacznie tego gatunku w rozkładzie ektopróchnicy.

Analiza składu jakościowego zbiorowisk grzybów zasiedlających badany materiał pozwala stwierdzić, że większość otrzymanych gatunków to saprotrofy, których podstawowym zadaniem jest rozkład substancji organicznej i włączanie pierwiastków do obiegu w środowisku przyrodniczym. Zaobserwowano jednak również obecność grzybów patogenicznych, do których należały, między innymi: *Alternaria* spp., *Colletorichum* spp., *Fusarium* spp., *Nectria* sp., *Phialophora* spp., *Phoma* spp., *Phytophtora* sp. Jednak liczebność otrzymanych patogenów nie była duża, osiągała

najwyżej kilka izolatów. Można więc przypuszczać, że nie miały one większego znaczenia w rozwoju ewentualnego procesu chorobowego. Najprawdopodobniej rozwój wymienionych gatunków był hamowany przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*, które licznie zasiedlały analizowany materiał. Poza wymienionym już *Trichoderma polysporum*, z ektopróchnicy otrzymano też *T. koningii* i *T. viride*, których frekwencja była stosunkowo duża. Grzyby z rodzaju *Trichoderma* znane są z dużej aktywności metabolicznej, szybkiego tempa wzrostu i wysokich zdolności adaptacyjnych, dzięki czemu występują w różnych środowiskach (Bogacz i in. 2004). Ponadto należą do bioregulatorów (Sierota 1982) i od lat znana jest ich ochronna rola przed biologicznymi czynnikami chorobotwórczymi (Mańka 2005). Wytwarzają szereg substancji aktywnych, które, między innymi, ograniczają rozwój patogenów (Mańka 2005; Iwatsuki i in. 2010).

Podziękowania

Badania zostały zrealizowane w ramach pracy nr: S/WBiIŚ/1/17 i sfinansowane ze środków na naukę MNiSW.

Literatura

Bednarek R., Dziadowiec H., Pokojska U., Prusinkiewicz Z. 2004. Badania ekologiczno-gleboznawcze. PWN, Warszawa.

Bis H. 2002. Występowanie grzybów toksynotwórczych w środowisku glebowym. [W:] Barabasz W. (red.), Aktywność drobnoustrojów w różnych środowiskach. Wyd. Katedry Mikrobiologii AR, Kraków: 35–41.

Bogacz A., Szulc A., Bober A., Pląskowska E., Matkowski K. 2004. Wpływ stopnia zmurszenia torfu na skład i liczebność grzybów glebowych obiektu Przedmoście. Rocz. Glebozn., 55/3: 39–51.

Cornwell W. 2008. Plant specirs traits are the predominant controls on litter decomposition rates within biomes worldwide. Ecology Lett., 11: 1065–1071.

Czerwiński A. 1995. Szata roślinna i pokrywa glebowa. [W:] Czerwiński A. (red.), Puszcza Knyszyńska. Monografia przyrodnicza. Zespół Parków Krajobrazowych w Supraślu, Supraśl: 203–238.

De Santo A. V., Rutigliano F. A., Berg B., Gigiola A. P., Alfani A. 2002. Fungal mycelium and decomposition of needle litter three contrasting coniferous forests. Acta Oecol., 23: 247–259.

Dziadowiec H. 1990. Rozkład ściółek w wybranych ekosystemach leśnych (mineralizacja, uwalnianie składników pokarmowych, humifikacja). Rozprawy UMK, Toruń.

Isidorov V. A., Smolewska M., Purzyńska-Pugacewicz A., Tyszkiewicz Z. 2010. Chemical composition of volatile and extractive compunds of pine and spruce Lear litter In the initial stages of decomposition. Biogeosciences, 7: 2785–2794.

Iwatsuki M., Kinoshita Y., Niitsuma M., Hashida J., Mori M., Ishiyama A., Namatame M., Nishihara-Tsukashima A., Nonaka K., Masuma R., Otoguro K., Yamada H., Shiomi K., Omura S. 2010. Antitrypanosomal peptaibiotics, trichosporins B-VIIa and B-VIIb, produced by Trichoderma polysporum FKI-4452. Journal of Antibiotics, 63/6 : 331–333.

Kabata-Pendias A., Piotrowska M., Bolibrzuch E. 1995. Badania gleb i roślin oraz metody analizy chemicznej w Zintegrowanym Monitoringu Środowiska Przyrodniczego. [W:] Kostrzewski A. (red.), Zintegrowany Monitoring Środowiska Przyrodniczego. Propozycje programowe. Biblioteka Monitoringu, Warszawa.

Kajak A. 2016. Biologia gleby. Wyd. SGGW, Warszawa.

Kowalkowski A. 1994: Metodyka badań jakościowo-ilościowych cech opadu organicznego na Stacjach Geoekologicznych Święty Krzyż i Góra Malik, Monitoring Środowiska Regionu Świętokrzyskiego, 2/94, KTN Kielce: 47–52.

Kowalkowski A., Jóźwiak M. 2003. Dynamika masy opadu organicznego w latach 1994–2002 w dwóch drzewostanach górskiej kwaśnej buczyny na głównym masywie Łysogór. Regionalny Monitoring Środowiska Przyrodniczego 4/2003. KTN, Kielce: 79–98.

Kowalski S. 1974. Zbiorowiska grzybów leśnego środowiska glebowego wybranych drzewostanów sosnowych. Prace Kom. Nauk Roln. i Kom. Nauk Leśn. PTPN, 38: 54–62.

Kozdrój J. 2004. Różnorodność mikroorganizmów glebowych w świetle badań molekularnych. Post. Mikrobiol., 43 (4): 375–398.

Kucharski J., Barabasz W., Bielińska E. J., Wyszkowska J. 2015. Właściwości biologiczne i biochemiczne gleby. [W:] Mocek A. (red.), Gleboznawstwo. PWN, Warszawa: 232–280.

Kwaśna H. 2014. Mikrobiologia rolnicza. Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań.

Łabaz B., Gałka B. 2010. Skład frakcyjny związków humusowych ektopróchnic gleb leśnych Gór Stołowych. Roczn. Glebozn., 61 (4): 146–153.

Łaska G. 2006. Tendencje dynamiczne zbiorowisk zastępczych w Puszczy Knyszyńskiej. Wyd. Nauk. Bogucki, Białystok-Poznań.

Łaziuk K. 2000. Nadleśnictwo Supraśl. Arboretum w Kopnej Górze. Supraśl.

Mańka K. 1974. Zbiorowiska grzybów glebowych jako kryterium oceny wpływu środowiska na choroby roślin. Zesz. Prob. Post. Nauk Rol., 160: 9–23.

Mańka K. 2005. Fitopatologia leśna. PWRiL. Warszawa.

Mańka K., Gierczak M. 1968. W sprawie metody izolowania grzybów ze ściółki leśnej. Prace Kom. Nauk Roln. i Kom. Nauk Leśn. PTPN, 25: 159–161.

Namieśnik J., Łukasik, J., Jamrógiewicz, Z. 1995. Pobieranie próbek środowiskowych do analizy. PWN, Warszawa.

Paul E. A., Clark F. E. 2000. Mikrobiologia i biochemia gleb. Wyd. Uniwersytet M. Curie Skłodowska, Lublin.

Romani A. M., Fischer H., Mille-Lindblom C., Tanvik L. J. 2006. Intractions of bacteria and fungi on decomposing litter: Differential extracellular enzyme activities. Ecology, 87: 2559–2569.

Sierota Z. 1982. Wpływ niektórych soli mineralnych na rozwój *Trichoderma viride in vitro*. Pr. Inst. Bad. Leśn., 612: 1–13.

Skiba S. 2002. Gleba w środowisku przyrodniczym. [W:] Barabasz W. (red.), Aktywność drobnoustrojów w różnych środowiskach. Wyd. Katedry Mikrobiologii AR. Kraków: 157–167.

Trojan P. 1981. Ekologia ogólna. Wyd. Nauk. PWN. Warszawa.

Van Loon G. W., Duffy S. J. 2007. Chemia środowiska. PWN. Warszawa.

Zak J. C., Willig M. R. 2004. Fungal biodiversity patterns. [W:] Mueller G.M., Bills G.F., Foster M.S. (red.), Biodiversity of Fungi. Inventory and Monitoring Methods, Elsevier Academic Press, Amsterdam-Boston-Heidelberg-London-New York-Oxford-Paris-San Diego-San Francisco-Singapore-Sydney-Tokyo: 59–75.

Zhang D., Hui D., Luo Y., Zhou G. 2008. Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and controlling factors. Plant Ecol., 1: 85–93.

9 Zmienność morfologiczna grzybów ektomikoryzowych w ryzosferze *Pulsatilla patens* (L.) Mill. i *Pinus sylvestris* L. w aspekcie interakcji międzygatunkowych

Grażyna **Łaska**[1] / Aneta **Sienkiewicz**[1] / Marlena **Łukasiuk**[1]
Jason D. **Hoeksema**[2] / Mélanie **Roy**[3] / Amber **Horning**[2]
Matt **Abbott**[2] / Claire **Tran**[2] / Josh **Mattox**[2]

[1] Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska
Katedra Inżynierii Rolno-Spożywczej i Kształtowania Środowiska
ul. Wiejska 45A, 15–351 Białystok
e-mail: g.laska@pb.edu.pl

[2] Department of Biology, Department of BioMolecular Sciences,
University of Mississippi University
MS, 38655, USA

[3] Laboratoire Evolution et Diversité Biologiques, Paul Sabatier University
de Narbonne 31062 Toulouse cedex 9, France

Streszczenie: Celem pracy jest ocena morfotypowej zmienności grzybów ektomikoryzowych (EKM) z ryzosfery dwóch gatunków: *Pulsatilla patens* (L.) Mill. i *Pinus sylvestris* L., zlokalizowanych w sąsiedztwie. Badania terenowe prowadzono w 2016 roku, w zbiorowiskach leśnych Puszczy Knyszyńskiej. Identyfikacji zmienności morfotypowej grzybów ektomikoryzowych dokonano z wykorzystaniem mikroskopu elektronicznego. Analizy statystyczne wykonano w programie Statistica ver. 13.

W badaniach stwierdzono, że łącznie z trzech punktów badawczych, w ryzosferze dwóch gatunków występują 24 zmienne morfotypy grzybów ektomikoryzowych, w tym 9 typów jest na korzeniach *Pulsatilla patens* i 15 na korzeniach *Pinus sylvestris*. Z 24 zmiennych morfotypów grzybów ektomikoryzowych, w ryzosferze obu gatunków występują 4 identyczne typy. W strukturze mikoryz sasanki otwartej i sosny zwyczajnej, największym udziałem charakteryzują się mikoryzy tworzone przez *Cenococcum*, odpowiednio: 27% i 39%.

Słowa kluczowe: zagrożone gatunki, sieci mikoryzowe, identyfikacja morfotypów EKM, klasy *Hymenomycetes, Gasteromycestes* i *Basidiomycetes*.

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 127-147

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

Aktywność mikroorganizmów ryzosfery jest jednym z czynników wpływających na rozwój roślin i ich reakcje na różnorodne czynniki zaburzeń (Pinton i in. 2000; Kowalchuk i in. 2002; Jones i in. 2003; Eisenhauer i in. 2010). Najbardziej znaną grupą organizmów ryzosfery są grzyby mikoryzowe, których liczbę ocenia się 1,2–1,5 mln gatunków, z tego 320 tys. gatunków w różnych fazach rozmnażania, posiadających obecnie szczegółowe charakterystyki (Cairney 2000; Simard, Durall 2004; Bidartondo 2005). Grzyby ektomikoryzowe należą do grzybów właściwych (*Fungi*) i najczęściej reprezentują gromadę grzybów podstawkowych *Basidiomycota*. Rzadziej należą do gromady grzybów workowych *Ascomycota* czy mitosporowych („*Deuteromycota*", *Fungi imperfecti*), tj. sztucznej gromady grzybów mitosporowych, stanowiących nieformalną grupę systematyczną (Kirk i in. 2001).

Stosując klasyfikację mikoryz, ektomikoryza dotyczy rodzaju symbiozy, w której grzybnia grzyba rozwija się na zewnątrz komórki rośliny (Agerer 2001). Mikoryza ektotroficzna (zewnętrzna) powstała prawie 200 mln lat temu i występuje u ok. 10% roślin, w tym u roślin okrytozalążkowych i nagozalążkowych (Kowalski 2007). Ektomikoryza jest typowa dla przedstawicieli rodziny *Pinaceae* (m.in. *Abies*, *Larix*, *Picea*, *Pinus*, *Pseudotsuga*, *Tsuga*), *Fagaceae* (*Fagus*, *Quercus*), *Betulaceae* (*Betula*, *Alnus*) oraz *Arbutus* i *Tilia*. Ektomikoryzę tworzą najczęściej grzyby z klasy *Homobasidiomycetes*, rzadziej *Ascomycetes* i *Zygomycetes*. Do najbardziej popularnych grzybów ektomikoryzowych należą: *Amanita*, *Telephora*, *Lacaria*, *Hebeloma*, *Cenococcum* i *Pisolithus*, występujące na całej kuli ziemskiej (Sandres 2002; Krupa 2010). W ektomikoryzie grzybnia otacza korzeń mufką i nie dociera do wnętrza komórek, jedynie do przestrzeni międzykomórkowych, tworząc sieć Hartiga. Mufka (opilśń) posiada zwykle kilka warstw komórek o grubości 20–60 μm i pełni funkcje włośników, które zanikają. Korzenie, pod działaniem symbionta grzybowego, zmieniają swój kształt, mogą różnić się budową i barwą mufki, co umożliwia odróżnienie ich od korzeni niemikoryzowych (Read 2002; Turnau i in. 2002). Grzybnia otacza korzenie roślin wpływając na ich stabilizację przez budowanie sieci strzępek i emisję substancji sklejającej lub wiążącej cząsteczki gleby (Miller, Jastrow 2000; Simard, Durall 2004; Teste i in. 2009a; Booth, Hoeksema 2010; Bingham, Simard 2012). Rośliny tworzące mikoryzę posiadają większą powierzchnię chłonną i dostęp do substancji pokarmowych, stąd mikoryza zwiększa pobieranie pierwiastków biogennych i wody, co wpływa pozytywnie na dojrzewanie, wzrost i rozwój roślin (Nieminen, Setala 2001; Hees i in. 2006; Müller i in. 2007). Grzyby mikory-

zowe uzyskują od roślin substancje wzrostowe, produkty asymilacji i witaminy (Pinton i in. 2002; Sandres 2002; Egerton-Warburton i in. 2007). Wpływ mikoryzy zwiększa witalność roślin w nieodpowiednich warunkach środowiskowych poprzez poprawę struktury podłoża i poprawę dostępu biogenów, ograniczenie stresu wodnego i wytrzymałość roślin na zasolenie, zakwaszenie, skrajne temperatury, koncentrację metali ciężkich w glebie (Nara 2006; Schoonmaker i in. 2007; Bingham, Simard 2013; Beckline, Yujum 2014), zwiększenie odporności roślin na patogeny (Rudawska 2000) i allelopatię (Trautwig i in. 2017). Symbiotyczne związki ektomikoryzowe mogą być fakultatywne lub obligatoryjne. Sosna zwyczajna, dąb szypułkowy, świerk pospolity i buk zwyczajny należą do gatunków obligatoryjnych, które bez mikoryzy nie mogą rosnąć właściwie. U olszy czarnej, brzozy brodawkowatej i wierzb, gatunków fakultatywnych, wystąpienie mikoryzy zależne jest od różnych warunków środowiskowych, a przeważnie od warunków glebowych (Marx i in. 2002). W Polsce prawie 900 gatunków grzybów jest zdolnych do tworzenia ektomikoryzy, w tym również znaczna jest liczba gatunków grzybów mikoryzowych sosny zwyczajnej *Pinus sylvestris* L. (Rudawska 1993). Symbionty mikoryzowe *Pinus sylvestris* i pozostałych drzew leśnych, należą przeważnie do *Hymenomycetes* i *Gasteromycetes* z klasy *Basidiomycetes*, mniej natomiast wiadomo o udziale grzybów z klasy *Ascomycetes* (Van Tichelen i in. 2001). Skuteczne mikoryzy ektotroficzne potwierdzono u sosny zwyczajnej z 50 gatunkami grzybów (Pachlewski 1983; Rudawska 1993). Nie badano natomiast różnego rodzaju interakcji międzygatunkowych pomiędzy obecnymi grzybami ektomikoryzowymi *Pinus sylvestris* i grzybami ektomikoryzowymi innych gatunków roślin występujących w bezpośrednim sąsiedztwie sosny i jej strefy korzeniowej. Celem niniejszej pracy jest ocena morfotypowej zmienności grzybów ektomikoryzowych z ryzosfery dwóch gatunków – *Pinus sylvestris* L. i *Pulsatilla patens* (L.) Mill., zlokalizowanych w sąsiedztwie.

2. Teren badań

Badania terenowe prowadzono w lipcu 2016 roku, w zbiorowiskach leśnych obrębu Sokołda, Nadleśnictwa Supraśl na terenie Puszczy Knyszyńskiej (Łaska 2006). Do badań laboratoryjnych pobrano po trzy próbki gleby i korzeni dwóch badanych gatunków występujących obok siebie, z trzech punktów badawczych: z Kopnej Góry, z Rezerwatu Woronicza i z Lipowego Mostu (Ryc. 9.1). Podstawowym warunkiem poboru prób, była obecność stanowisk sasanki otwartej *Pulsatilla patens* (L.) Mill. w bliskim sąsiedztwie *Pinus sylvestris* L. Trzy pierwsze próby dla

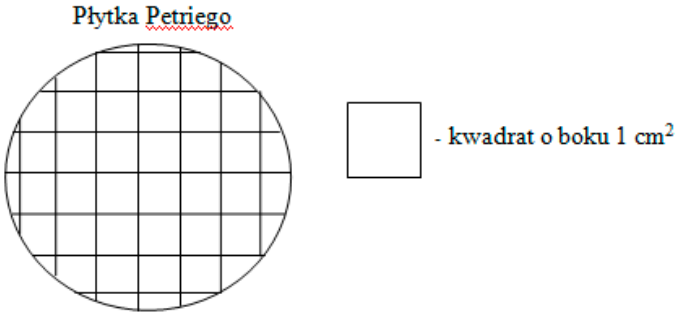
dwóch badanych gatunków (łącznie 6 prób z 1 stanowiska) pobrano w okolicach leśnej osady Kopna Góra, w centrum Puszczy Knyszyńskiej, obok drogi wojewódzkiej nr 676 relacji Białystok–Krynki (N 53°07'07,38", E 23°12'34,50"). Kolejne trzy próby pobrano na stanowiskach sasanki otwartej na obszarze Rezerwatu Woronicza (N 53°15'01,86", E 23°29'16,26"), a następne, wzdłuż drogi na trasie Kopna Góra–Lipowy Most, za rozwidleniem dróg na Łaźnie (N 53°13'16,38", E 23°30' 09,84"). Drzewostan sosnowy na stanowiskach sasanki otwartej reprezentuje zbiorowiska boru mieszanego świeżego *Serratulo-Pinetum typicum* (W. Mat. 1981) występujący na glebach rdzawych zbudowanych z pisków luźnych i słabogliniastych o podobnym uziarnieniu.

3. Metody badań

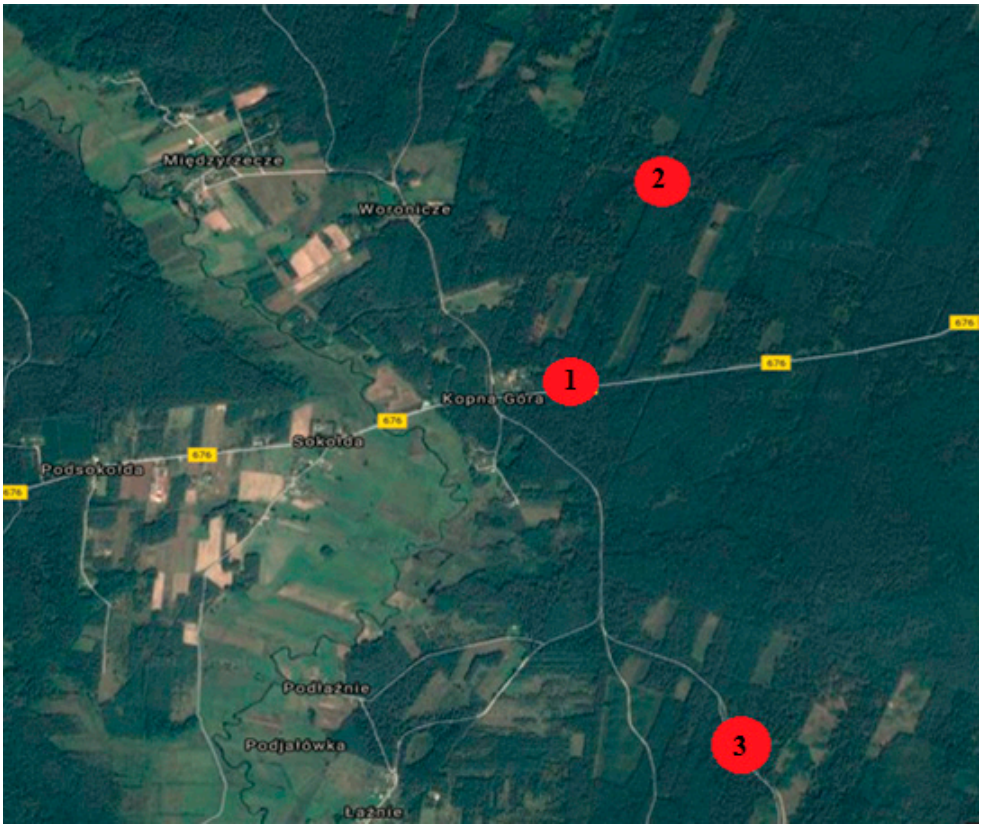
Próbki gleby i korzeni dwóch badanych gatunków pobrano 6 lipca 2016 roku, z głębokości do 20 cm. Łącznie z 3 stanowisk zebrano 18 prób (3 stanowiska po 3 próby dla 2 badanych gatunków). Zebrane próbki umieszczono w workach plastikowych i przewieziono do laboratorium. W laboratorium poszczególne próby z 9 lokalizacji rozdzielono na szalki Petriego, zalano delikatnie i spłukano wodą destylowaną. Tak przygotowany materiał roślinny strefy korzeniowej poddano szczegółowej analizie. Identyfikacji zmienności morfotypowej grzybów ektomikoryzowych dokonano z wykorzystaniem mikroskopu elektronicznego z wbudowaną funkcją fotograficzną, co pozwoliło na dokumentację zmiennych typów mikoryz.

W trakcie analizy zmienności morfotypowej EKM, obliczono liczbę zróżnicowania morfotypów grzybów ektomikoryzowych (N) i długości ich korzeni R – z wykorzystaniem szalek Petriego i wzorów (1–2). Analizy statystyczne wykonano w programie Statistica ver. 13.

(1) Obliczenie liczby zróżnicowanych morfotypów grzybów ektomikoryzowych (N)



N = Σ (# skrzyżowania korzeni w poziomie) + Σ (# skrzyżowania korzeni w pionie)



Rycina 9.1. Lokalizacja poboru prób w Kopnej Górze (1), w Rezerwacie Woronicza (2) i z okolicy Lipowego Mostu (3) na terenie Puszczy Knyszyńskiej

Źródło: opracowanie własne, na podstawie: https://www.google.pl/maps.

(2) Obliczenie długości korzeni R w zakresie różnorodnych morfotypów grzybów mikoryzowych (cm)

$$R = {}^{11}/_{14} * N * G$$

gdzie:
R – długość korzeni grzybów mikoryzowych (cm),
N – liczba różnych morfotypów grzybów policzonych na kole szalki Petriego w poziomie i w pionie,
G – jednostka siatki (cm).

4. Wyniki badań

W badaniach stwierdzono, że łącznie z trzech punktów badawczych (z Kopnej Góry, z Rezerwatu Woronicza i z Lipowego Mostu), w ryzosferze dwóch gatunków występują 24 zmienne morfotypy grzybów ektomikoryzowych, w tym 9 typów znajduje się na korzeniach *Pulsatilla patens* oraz 15 na korzeniach *Pinus sylvestris*.

4.1. Analiza grzybów ektomikoryzowych na korzeniach *Pulsatilla patens* (L.) Mill.

Łącznie na korzeniach *Pulsatilla patens* (PP) w Kopnej Górze, Rezerwacie Woronicza i w Lipowym Moście stwierdzono występowanie 9 morfotypów grzybów ektomikoryzowych, tworzących 522 mikoryzy o łącznej długości 4,1 m korzeni (Tab. 9.1).

Największe zróżnicowanie morfotypów grzybów na korzeniach *Pulsatilla patens* występuje w próbach z Rezerwatu Woronicza (7 z 9 morfotypów), tworzących łącznie 218 mikoryz (Tab. 9.1). W próbach z Kopnej Góry i z Lipowego Mostu, zidentyfikowano po 6 różnych morfotypów grzybów ektomikoryzowych (Tab. 9.1). Tworzą one łącznie 124 mikoryzy na korzeniach sasanki otwartej z Kopnej Góry (typ: 1, 2, 5, 7, 8, 9) i 180 mikoryz na korzeniach z Lipowego Mostu (typy 1–6) (Tab. 9.1–9.2).

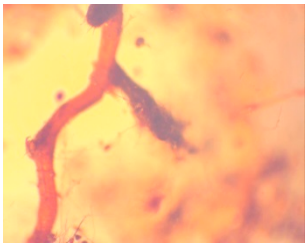
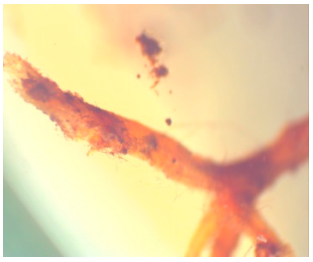
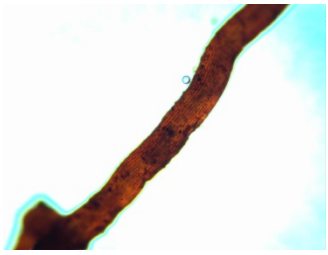
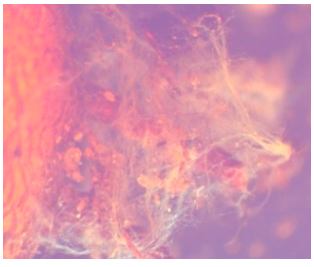
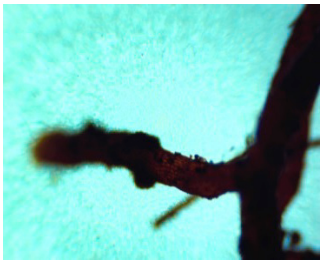
Na korzeniach sasanki otwartej największym udziałem charakteryzują się mikoryzy tworzone przez *Cenococcum* (typ 1 – 27%), rozmyte brązowe (typ 3 – 23%) i cienkie brązowe (typ 7 – 22,2%). Udział pozostałych morfotypów kształtuje się od 1,3% do 8,6% (Ryc. 9.2).

Tabela 9.1. Liczba morfotypów grzybów ektomikoryzowych z korzeni sasanki otwartej z poszczególnych lokalizacji

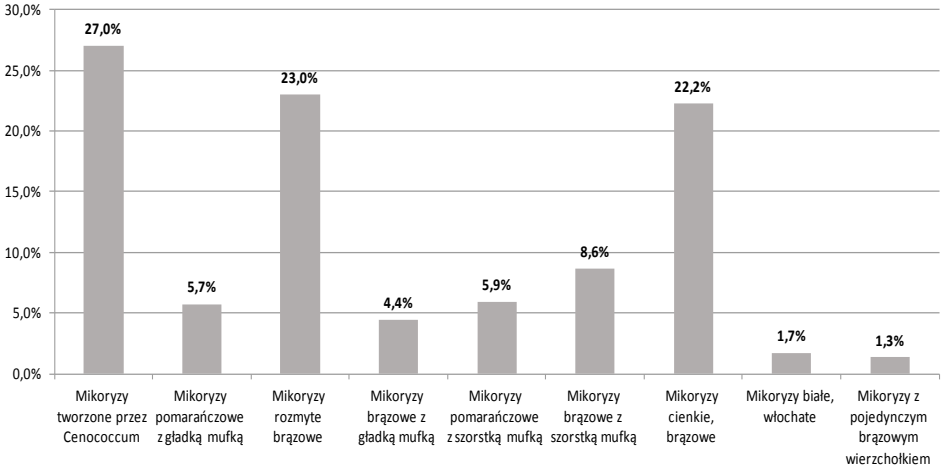
Lp.	Lokalizacja	KOPNA GÓRNA			REZERWAT WORONICZA			LIPOWY MOST			Σ
	Morfotypy mikoryz	PP 1	PP 2	PP 3	PP 4	PP 5	PP 6	PP 7	PP 8	PP 9	
1.	Mikoryzy tworzone przez *Cenococcum*		7	25	16		10	8		75	141
2.	Mikoryzy pomarańczowe z gładką mufką			4				16		10	30
3.	Mikoryzy rozmyte brązowe						76	4		40	120
4.	Mikoryzy brązowe z gładką mufką							11		12	23
5.	Mikoryzy pomarańczowe z szorstką mufką			10			18		3		31
6.	Mikoryzy brązowe z szorstką mufką						44		1		45
7.	Mikoryzy cienkie, brązowe		72		10	8	26				116
8.	Mikoryzy białe, włochate			3	6						9
9.	Mikoryzy z pojedynczym brązowym wierzchołkiem	3				4					7
N	Liczba zróżnicowanych morfotypów na szalce Petriego	3	79	42	32	12	174	39	4	137	522

Źródło: badania własne.

Tabela 9.2. Klasyfikacja morfotypów grzybów ektomikoryzowych w ryzosferze sasanki otwartej

Morfotyp	Dokumentacja fotograficzna zmienności morfotypów	
Typ 1 – mikoryzy tworzone przez *Cenococcum*	Typ 2 – mikoryzy pomarańczowe z gładką mufką	Typ 3 – mikoryzy rozmyte brązowe
		
Typ 4 – mikoryzy brązowe z gładką mufką	Typ 5 – mikoryzy pomarańczowe z szorstką mufką	Typ 6 – mikoryzy brązowe z szorstką mufką
		
Typ 7 – mikoryzy cienkie, brązowe	Typ 8 – mikoryzy białe, włochate	Typ 9 – mikoryzy z pojedynczym brązowym wierzchołkiem
		

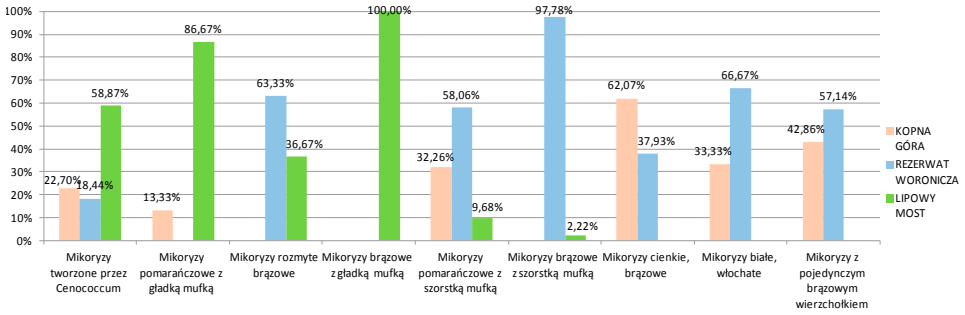
Źródło: badania własne.



Rycina 9.2. Procentowy udział grzybów ektomikoryzowych na korzeniach sasanki otwartej w trzech punktach badawczych

Źródło: badania własne.

Na korzeniach sasanki otwartej na wszystkich punktach badawczych zidentyfikowano dwa morfotypy grzybów: tworzone przez *Cenococcum* (typ 1) i grzyby ektomikoryzowe pomarańczowe z szorstką mufką (typ 5) (Ryc. 9.3). W ryzosferze *Pulsatilla patens*, mikoryzy tworzone przez *Cenococcum* częściej występują w Lipowym Moście (58,9%) niż w próbach z Kopnej Góry (22,7%) i z Rezerwatu Woronicza (18,4%) (Ryc. 9.3). Grzyby ektomikoryzowe pomarańczowe z szorstką mufką, odwrotnie: częściej są reprezentowane na korzeniach sasanki otwartej w Rezerwacie Woronicza (58,1%) i w Kopnej Górze (32,3%) niż w Lipowym Moście (9,7%). Grzyby ektomikoryzowe brązowe, z gładką mufką, występują tylko na korzeniach sasanki w Lipowym Moście, a pozostałe morfotypy są już reprezentowane w dwóch miejscach pomiarowych. Grzyby ektomikoryzowe brązowe z szorstką mufką zdecydowanie jednak dominują na korzeniach sasanki otwartej w Rezerwacie Woronicza (97,8%), przy znikomym ich udziale w próbach z Lipowego Mostu (2,2%), a pomarańczowe z gładką mufką – na korzeniach sasanki w Lipowym Moście (8,7%), przy mniejszym ich udziale w próbach z Kopnej Góry (13,3%). Grzyby ektomikoryzowe cienkie brązowe, białe włochate i z pojedynczym brązowym wierzchołkiem występują na korzeniach sasanki jednocześnie w próbach z Kopnej Góry i z Rezerwatu Woronicza (Ryc. 9.3).



Rycina 9.3. Rozkład procentowy poszczególnych morfotypów grzybów ektomikoryzowych na korzeniach sasanki otwartej w Kopnej Górze, Rezerwacie Woronicza i Lipowym Moście

Źródło: badania własne.

4.2. Analiza grzybów ektomikoryzowych na korzeniach *Pinus sylvestris* (L.)

Zmienność morfotypów grzybów ektomikoryzowych na korzeniach *Pinus sylvestris* (PS) jest większa niż na korzeniach *Pulsatilla patens*, gdzie łącznie w próbach z Kopnej Góry, z Rezerwatu Woronicza oraz z Lipowego Mostue stwierdzono 15 różnych morfotypów grzybów (Tab. 9.3). Na korzeniach sosny zwyczajnej tworzą one łącznie 436 mikoryz o łącznej długości 3,43 m korzeni. Wartość ta jest o 86 połączeń mikoryzowych mniejsza niż w przypadku korzeni sasanki otwartej.

Większe zróżnicowanie morfotypów grzybów na korzeniach *Pinus sylvestris* (po 7 z 15 morfotypów) występuje w próbach z Lipowego Mostu (typy 1, 6, 10–14) tworzących łącznie 176 mikoryz i z Rezerwatu Woronicza (typy 1–2, 4–5, 7–9) tworzących łącznie 154 mikoryzy niż na korzeniach sosny zwyczajnej z Kopnej Góry, gdzie zidentyfikowano 6 morfotypów grzybów ektomikoryzowych (typy 1–5, 15), tworzących łącznie 106 mikoryz (Tab. 9.3–9.4).

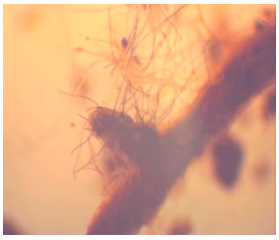
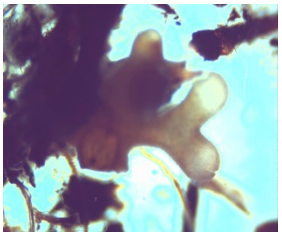
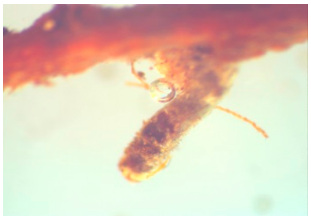
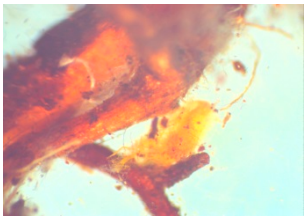
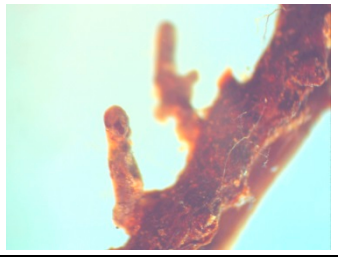
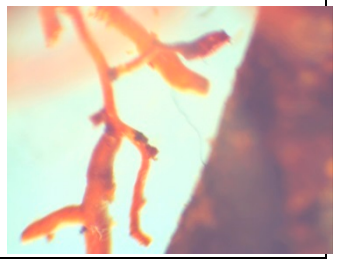
Na korzeniach sosny zwyczajnej największym udziałem charakteryzują się mikoryzy tworzone przez *Cenococcum* (typ 1 – 39%). Z mniejszym udziałem występują dwa inne morfotypy grzybów: z czarną rozłożoną wiązką (typ 2 – 15,4%) oraz z czerwoną wiązką i gładką mufką (typ 4 – 10,3%). Udział pozostałych morfotypów jest już znacznie mniejszy i kształtuje się poniżej 10% (Ryc. 9.4).

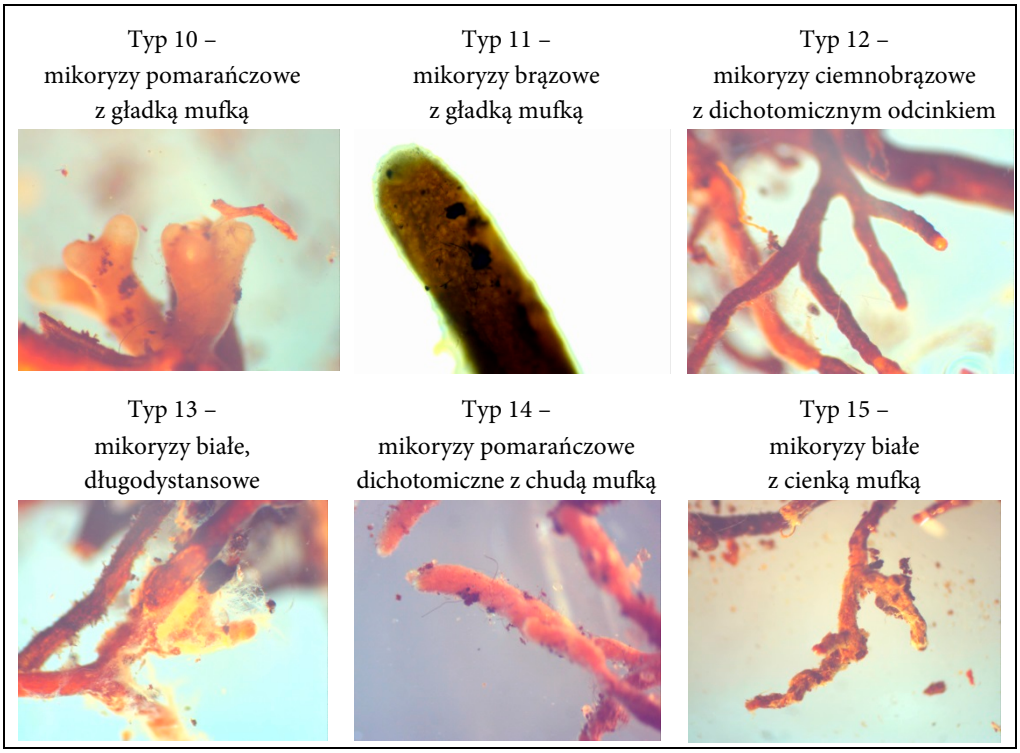
Tabela 9.3. Liczba morfotypów grzybów ektomikoryzowych z korzeni sosny zwyczajnej z poszczególnych lokalizacji

Lp.	Lokalizacja	KOPNA GÓRA			REZERWAT WORONICZA			LIPOWY MOST			Σ
	Morfotypy mikoryz	PS 1	PS 2	PS 3	PS 4	PS 5	PS 6	PS 7	PS 8	PS 9	
1.	Mikoryzy tworzone przez *Cenococcum geophilum*		36	12	32	25		41		24	170
2.	Mikoryzy z czarną, rozłożoną wiązką	43			21		3				67
3.	Mikoryzy białe – hydrofobowe		1								1
4.	Mikoryzy z czerwoną wiązką i gładką mufką		3	2		20	20				45
5.	Mikoryzy białe, włochate			2	1		1				4
6.	Mikoryzy jasnożółte, owłosione (piloderma)							4	2		6
7.	Mikoryzy z pojedynczym czerwonym, gładkim wierzchołkiem					10					10
8.	Mikoryzy czarne z elementami białego, rozgałęzione						18				18
9.	Mikoryzy brązowe z dużą gładką mufką						3				3
10.	Mikoryzy pomarańczowe z gładką mufką								27	13	40
11.	Mikoryzy brązowe z gładką mufką								8		8
12.	Mikoryzy ciemnobrązowe z dichotomicznym odcinkiem								30		30
13.	Mikoryzy białe, długodystansowe							4		17	21
14.	Mikoryzy pomarańczowe dichotomiczne z chudą mufką									6	6
15.	Mikoryzy białe z cienką mufką	7									7
N	Liczba zróżnicowanych morfotypów na szalce Petriego	50	40	16	54	55	45	49	67	60	436

Źródło: badania własne.

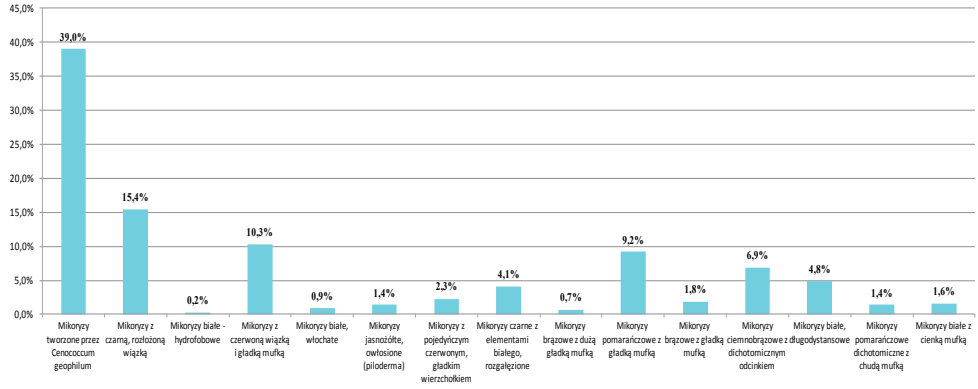
Tabela 9.4. Klasyfikacja morfotypów grzybów ektomikoryzowych w ryzosferze sosny zwyczajnej

Morfotyp	Dokumentacja fotograficzna zmienności morfotypów	
Typ 1 – mikoryzy tworzone przez *Cenococcum geophilum*	Typ 2 – mikoryzy z czarną, rozłożoną wiązką	Typ 3 – mikoryzy białe – hydrofobowe
		
Typ 4 – mikoryzy z czerwoną wiązką i gładką mufką	Typ 5 – mikoryzy białe, włochate	Typ 6 – mikoryzy jasnożółte, owłosione (piloderma)
		
Typ 7 – mikoryzy z pojedynczym czerwonym, gładkim wierzchołkiem	Typ 8 – mikoryzy czarne z elementami białego, rozgałęzione	Typ 9 – mikoryzy brązowe z dużą gładką mufką
		



Źródło: badania własne.

Wśród 15 morfotypów grzybów ektomikoryzowych zlokalizowanych na korzeniach sosny zwyczajnej, jedynie mikoryzy tworzone przez *Cenococcum geophilum* (typ 1) występują z podobną częstością (28,2–38,2%) – jak wskazały próby badawcze z każdego punktu lokalizacji (Ryc. 9.5). Grzyby ektomikoryzowe z czarną rozłożoną wiązką (typ 2), z czerwoną wiązką i gładką mufką (typ 4) oraz białe włochate (typ 5) stwierdzono jednocześnie na korzeniach sosny w próbach z Kopnej Góry oraz z Rezerwatu Woronicza (Ryc. 9.5). Pozostałe morfotypy grzybów występują na korzeniach sosny zwyczajnej już tylko w jednym miejscu. Grzyby ektomikoryzowe białe – hydrofobowe (typ 3) oraz białe z cienką mufką (typ 15) stwierdzono tylko na korzeniach sosny zwyczajnej w próbach z Kopnej Góry. Morfotypy 7, 8, 9 (Tab. 9.4) występują tylko na korzeniach sosny zwyczajnej w próbach z Rezerwatu Woronicza, a pozostałe morfotypy grzybów: typ: 6, 10, 11, 12, 13, 14 – tylko na korzeniach sosny zwyczajnej w próbach z Lipowego Mostu (Ryc. 9.5).

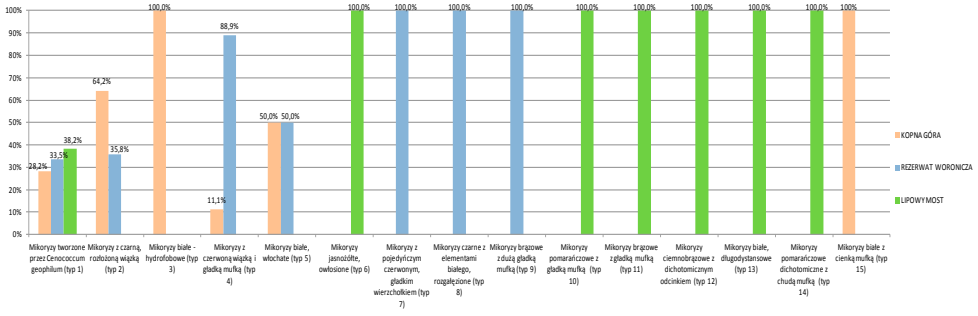


Rycina 9.4. Procentowy udział grzybów ektomikoryzowych na korzeniach sosny zwyczajnej w trzech punktach badawczych

Źródło: badania własne.

4.3. Zmienność morfologiczna grzybów ektomikoryzowych w ryzosferze *Pulsatilla patens* (L.) Mill. i *Pinus sylvestris* L. w aspekcie interakcji międzygatunkowych

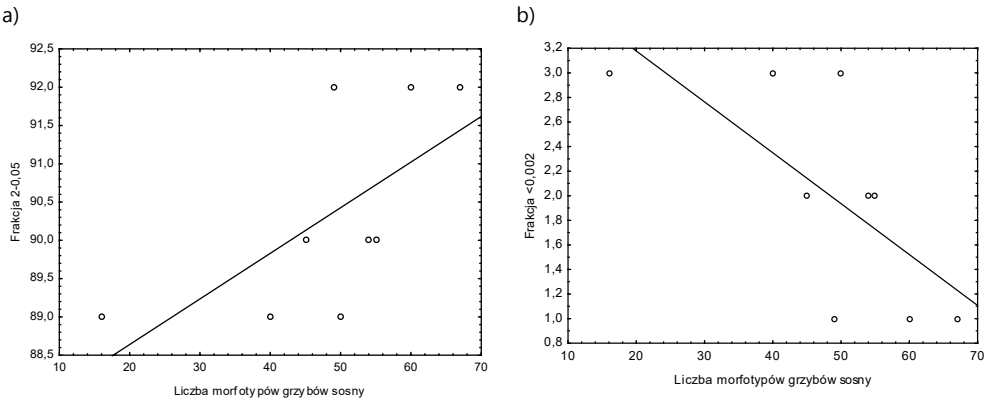
Wśród 24 zmiennych morfotypów grzybów ektomikoryzowych, w ryzosferze obu gatunków występują 4 identyczne. Są to morfotypy *Cenococcum*, pomarańczowe z gładką mufką, brązowe z gładką mufką i białe, włochate (Tab. 9.2, Tab. 9.4). Są one obecne w ryzosferze obu gatunków na tych samych stanowiskach (Tab. 9.1, Tab. 9.3). W strukturze mikoryz sasanki otwartej oraz sosny zwyczajnej, największym udziałem charakteryzują się mikoryzy tworzone przez *Cenococcum* (odpowiednio: 27% i 39%). Uwzględniając wszystkie stanowiska, na korzeniach sasanki otwartej tworzą one 141 mikoryz, a na korzeniach sosny zwyczajnej – 170 mikoryz (Tab. 9.1–9.4). Liczne są również morfotypy pomarańczowe z gładką mufką (odpowiednio: 5,7% i 9,2%), które na korzeniach sasanki otwartej tworzą 30 mikoryz, a na korzeniach sosny zwyczajnej – 40 mikoryz. Pozostałe dwa morfotypy grzybów ektomikoryzowych występują już z mniejszą częstością na korzeniach sasanki otwartej (1,7–4,4%) i sosny zwyczajnej (0,9–1,8%), tworząc odpowiednio: od 9 do 23 i od 4 do 8 mikoryz na korzeniach badanych gatunków (Tab. 9.1, Tab. 9.3).



Rycina 9.5. Rozkład procentowy poszczególnych morfotypów grzybów ektomikoryzowych na korzeniach sosny zwyczajnej w Kopnej Górze, w Rezerwacie Woronicza i w Lipowym Moście

Źródło: badania własne.

Analiza statystyczna poszukiwanych związków pomiędzy zmiennością morfotypów na korzeniach sasanki otwartej i sosny zwyczajnej a cechami charakteryzującymi poszczególne stanowiska, nie wykazała statystycznie istotnych różnic w zależności od pokrycia i składu gatunkowego warstwy zielnej. Współczynnik korelacji rang Spearmana wskazuje natomiast, że występuje znaczna dodatnia zależność pomiędzy liczbą morfotypów grzybów ektomikoryzowych na korzeniach sosny a frakcją piasku (r_s=0,69), i znaczna ujemna zależność pomiędzy liczbą morfotypów grzybów ektomikoryzowych na korzeniach sosny a frakcją iłu (r_s=-0,69) w składzie granulometrycznym gleb z poszczególnych stanowisk (Ryc. 9.6).



Rycina 9.6. Współczynnik korelacji rang Spearmana pomiędzy liczbą morfotypów grzybów ektomikoryzowych na korzeniach sosny a frakcją piasku (a) i frakcją iłu (b)

Źródło: badania własne.

5. Dyskusja

Grzyby mikoryzowe są zasadniczym komponentem ryzosfery, a liczna ich obecność na korzeniach roślin może świadczyć o naturalności ekosystemu (Pinton i in. 2000; Leake i in. 2004; Van der Heijden i in. 2008; Van der Heijden, Horton 2009; Beckline, Yujum 2014). Potwierdzają to wyniki badań, w których największe zróżnicowanie morfotypów grzybów na korzeniach *Pulsatilla patens* i *Pinus sylvestris* stwierdzono na stanowiskach w Rezerwacie Woronicza, a najmniejsze – na stanowiskach w Kopnej Górze, w odległości około 5 m od drogi wojewódzkiej Białystok–Krynki.

W zbiorowiskach leśnych grzyby ektomikoryzowe pełnią ważną rolę, wpływając na zmienność sposobów adaptacji roślin do niekorzystnych czynników środowiska (Jones i in. 2003; Booth 2004; Whitfield 2007; Piculell i in. 2008; Hoeksema i in. 2009; Simard i in. 2012). *Pinus sylvestris* w zbiorowiskach leśnych, cechuje trwałe współżycie mikoryzowe, którego główną rolą jest rozbudowa powierzchni chłonnej korzeni i zabezpieczenie systemu korzeniowego przed patogenami korzeniowymi (Sylvia 2000; Van Tichelen 2001; Sarjala, Potila 2005; Dickie i in. 2010). Stwierdzone najliczniej w badaniach morfotypy grzybów ektomikoryzowych *Cenococcum geophilum* na korzeniach *Pinus sylvestris* i występującej obok *Pulsatilla patens* są zdolne do produkcji enzymów glikozydowych, ksylozy i fosfatazy, w celu hydrolizy substratów glebowych i uzyskania dostępu do składników odżywczych ważnych dla siebie i mikoryzowych gatunków roślin (Redlak i in. 2001). Uzyskane wyniki badań, w odniesieniu do liczby mikoryz tworzonych przez *Cenococcum geophilum*, są podobne do wyników Menkisa i in. (2005), monitorujących strukturę mikoryz u sadzonek sosny zwyczajnej i świerka pospolitego. *Cenococcum geophilum* to gatunek grzybów *Ascomycete* i jedyny typ mikoryzowy w największej klasie grzybów *Dothideomycetes*, niszczących patogeny korzeniowe roślin. Tworzy on czarne ektomikoryzy z ciemno zabarwionymi, sztywnymi strzępkami pochodzącymi od wierzchołków korzeni. Jest to kosmopolityczny i jeden z najczęstszych gatunków grzybów ektomikoryzowych występujących w ekosystemach leśnych (Dickie 2007).

Grzyby ektomikoryzowe mają kluczowe znaczenie w obiegu węgla w ekosystemach leśnych i są jednym z podstawowych wektorów wymiany węgla z biomasy nadziemnej do środowiska glebowego (Hobby 2006; Fellbaum i in. 2014). Istnieją dowody na to, że grzybnia *Cenococcum geophilum* jest bardzo odporna na rozpad i ma potencjał do sekwestracji dużych ilości węgla w tkankach (Clemmensen i in. 2013; Fernandez i in. 2013). Grzyby mikoryzowe wpływają na gromadzenie się

węgla w drzewostanie, a wysoki poziom oddychania korzeni mikoryzowych i produkcja tymczasowych owocników przez grzyby ektomikoryzowe skutkują szybkim obiegiem węgla przez ekosystem (Langley, Hungate 2003; Cairney 2012; Ekblad i in. 2013). Przez to mikoryza pełni ważną rolę w różnorodności, stabilności i produktywności naturalnych ekosystemów (Koide i in. 2007; Koide, Malcolm 2009; Feofilova 2010; Wilkinson i in. 2011; Fernandez, Koide 2012). Wpływa ona również korzystnie na wzrost stężenia chlorofilu i wyższy poziom uwodnienia tkanek roślin, nieraz wspólnie z zredukowaniem tempa transpiracji (Głuszek i in. 2008).

Grzyby mikoryzowe zapewniają różnorodność gatunkową zbiorowisk poprzez wyrównywanie poziomu odżywiania roślin. Składniki pokarmowe z roślin lepiej odżywionych są transportowane do roślin o gorszej kondycji poprzez pomosty grzybniowe (Simard, Durall 2004; Egerton-Warburton i in. 2007; Warren i in. 2008; Teste i in. 2009; Booth, Hoeksema 2010). Być może takie interakcje międzygatunkowe zachodzą pomiędzy grzybami ektomikoryzowych *Pinus sylvestris* i grzybami występującej obok *Pulsatilla patens*, na tych samych stanowiskach. W badaniach stwierdzono, że wśród 24 zmiennych morfotypów grzybów ektomikoryzowych, w ryzosferze obu gatunków występują 4 identyczne. Dotychczas wskazywano jedynie, że *Pulsatilla patens* jest związana z grzybami arbuskularnie mikoryzowymi, tworzącymi mikoryzę endotroficzną (wewnętrzną), szczególnie z gatunkami z rodzajów *Glomus*, *Scutellospora*, *Acaulospora* i *Gigaspora* (Öpik i in. 2003). W badaniach laboratoryjnych wykazano krótszą przeżywalność siewek sasanki otwartej w glebie wyjałowionej, która nie zawiera szczepów arbuskularnych grzybów mikoryzowych. Wskazuje to na fakt, że skuteczna kolonizacja nowych terenów przez sasankę otwartą prawdopodobnie jest uzależniona od występowania na tym obszarze odpowiednich arbuskularnych grzybów mikoryzowych (Moora i in. 2004). Natomiast dalsza stabilizacja i trwałość populacji w danym miejscu może być związana z obecnością grzybów ektomikoryzowych, a dodatkowo może wynikać z ich połączeń z grzybami ektomikoryzowymi sosny zwyczajnej. Mogą świadczyć o tym stanowiska występowania *Pulsatilla patens* na siedliskach borów mieszanych świeżych i borów świeżych, z dominującą w drzewostanie *Pinus sylvestris*.

Podziękowania

Badania sfinansowano ze środków na naukę MNiSW w ramach pracy Nr S/WBiIŚ/5/2016.

Literatura

Agerer R., 2001. Exploration types of ectomycorrhizae. Mycorrhiza, 11: 107–114.

Beckline M., Yujun S. 2014. Evaluating the effects of global environmental changes on ecosystems via mycorrhizae, soil biota and plant traits. App. Ecol. Env. Res., 2: 135–140.

Bidartondo M. I. 2005. The evolutionary ecology of mycoheterotrophy. New Phytol., 167: 335–352.

Bingham M. A., Simard S. W. 2012. Mycorrhizal networks affect ectomycorrhizal fungal community similarity between conspecific trees and seedlings. Mycorrhiza, 22: 317–326.

Bingham M. A., Simard S. W. 2013. Seedling genetics and life history outweigh mycorrhizal network potential to improve conifer regeneration under drought. Forest Ecol. Manag. 287: 132–139.

Booth M. G. 2004. Mycorrhizal networks mediate overstorey-understorey competition in a temperate forest. Ecol Lett., 7: 538–546.

Booth M. G., Hoeksema J. D. 2010. Mycorrhizal networks counteract competitive effects of canopy trees on seedling survival. Ecology, 91: 2294–2302.

Cairney J. W. G. 2000. Evolution of mycorrhiza systems. Naturwissenschaften, 87: 467–475.

Cairney J. W. G. 2012. Extramatrical mycelia of ectomycorrhizal fungi as moderators of carbon dynamics in forest soil. Soil Biol. Biochem., 47: 198–208.

Clemmensen K. E., Bahr A., Ovaskainen O., Dahlberg A., Ekblad A., Wallander H., Stenlid J., Finlay R. D., Wardle D. A., Lindahl B. D. 2013. Roots and associated fungi drive long-term carbon sequestration in boreal forest. Science, 339: 1615–1618.

Dickie I. A. 2007. Host preference, niches and fungal diversity. New Phytol., 174: 230–233.

Dickie I. A., Bolstridge N., Cooper J. A., Peltzer D. A. 2010. Co-invasion by *Pinus* and its mycorrhizal fungi. New Phytol., 187: 475–484.

Egerton-Warburton L. M., Querejeta J. I., Allen M. F. 2007. Common mycorrhizal networks provide a potential pathway for the transfer of hydraulically lifted water between plants. J Exp. Bot., 58: 1473–1483.

Eisenhauer, N., Bebler H., Engels C., Gleixner G., Habekost M., Milcu A., Partsch S. 2010. Plant diversity effects on soil microorganisms support the singular hypothesis. Ecology, 91: 485–496.

Ekblad A., Wallander H., Godbold D. L., Cruz C., Johnson D., Baldrian P., Plassard C. 2013. The production and turnover of extramatrical mycelium of ectomycorrhizal fungi in forest soils: role in carbon cycling. Plant and Soil, 366: 1–27.

Fellbaum C. R., Mensah J. A., Cloos A. J., Strahan G. E., Pfeffer P. E., Kiers E. T., Bãcking H. 2014. Fungal nutrient allocation in common mycorrhizal networks is regulated by the carbon source strength of individual host plants. New Phytol., 203: 646–656.

Feofilova E. P. 2010. The fungal cell wall: modern concepts of its composition and biological function. Microbiology, 79: 711–720.

Fernandez C. W., Koide R. T. 2012. The role of chitin in the decomposition of ectomycorrhizal fungal litter. Ecology, 93: 24–28.

Fernandez C. W., McCormack M. L., Hill J. M., Pritchard S. G., Koide R. T. 2013. On the persistence of *Cenococcum geophilum* ectomycorrhizas and its implications for forest carbon and nutrient cycles. Soil Biol. Biochem., 65: 141–143.

Głuszek S., Sas-Paszt L., Sumorok B., Derkowska E. 2008. Wpływ mikoryzy na wzrost i plonowanie roślin ogrodniczych. Postępy Nauk Rolniczych, 6: 11–22.

Hees P., Rosling A., Finlay R. 2006. The impact of trees, ectomycorrhiza and potassium availability on simple organic compounds and dissolved organic carbon in soil. Soil Biol. Bioch. 38: 1912–1923.

Hobbie E. A. 2006. Carbon allocation to ectomycorrhizal fungi correlates with belowground allocation in culture studies. Ecology, 87: 563–569.

Hoeksema J. D., Piculell B., Thompson J. N. 2009. Within-population genetic variability in mycorrhizal interactions. Communicative and Integrative Biology, 2: 110–112.

Jones M. D., Durall D. M., Cairney J. W. G. 2003. Ectomycorrhizal fungal communities in young forest stands regenerating after clearcut logging. New Phytol., 157: 399–422.

Kirk P. M., Cannon P. F., David J. C., Stalpers J. A. 2001. Dictionary of the fungi. IX ed. CAB International, Wallingford, Oxon.

Koide R. T., Malcolm G. M. 2009. N concentration controls decomposition rates of different strains of ectomycorrhizal fungi. Fungal Ecol., 2: 197–202.

Koide R. T., Shumway D. L., Xu B., Sharda J. N. 2007. On temporal partitioning of a community of ectomycorrhizal fungi. New Phytol., 174: 420–429.

Kowalchuk G. A., Buma D. S., Boer W, Klinkhamer P. G. L.,Veen J.A. 2002. Effects of aboveground plant species composition and diversity on the diversity of soil-borne microorganisms. Antonie Van Leeuwenhoek, 81: 509–520.

Kowalski S. 2007. Ektomikoryzy. Nowe biotechnologie w polskim szkółkarstwie leśnym. CILP, Warszawa.

Krupa A. 2010. Mikoryzy i ich wielofunkcyjna rola w środowisku. Chem. Env. Biot., 14: 175–182.

Langley J. A., Hungate B.A. 2003. Mycorrhizal controls on belowground litter quality. Ecology, 84: 2302–2312.

Leake J. R., Johnson D., Donnelly D. P., Muckle G. E., Boddy L., Read D. J. 2004. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. Can. J Bot. 82: 1016–1045.

Łaska G. 2006. Tendencje dynamiczne zbiorowisk zastępczych w Puszczy Knyszyńskiej. Bogucki Wyd. Nauk. Białystok-Poznań.

Marx D. H., Marrs L. F., Cordell Ch. E. 2002. Practical use of the mycorrhizal fungal technology in forestry, reclamation, arboriculture, agriculture, and horticulture. Dendrology, 47: 27–40.

Menkis A., Vasiliaukas R., Taylor A. F. S., Stenlid J., Finlay R. 2005. Fungal communities in mycorrhizal roots of conifer seedlings in forest nurseries under different cultivation systems, assessed by morphotyping, direct sequencing and mycelia osolation. Mycorrhiza, 16: 33–41.

Miller R., Jastrow J. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. [W:] Kapulnik Y., Douds D. D. (red.), Arbuscular mycorrhizae: molecular biology and physiology. Kluwer Academic Press, Dordrecht: 3–18.

Moora M., Öpik M., Sen R., Zobel M. 2004. Native arbuscular mycorrhizal fungal communities differentially influence the seedling performance of rare and common *Pulsatilla* species. Funct. Ecol., 18: 554–562.

Müller T., Avolio M., Olivi M., Benjdia M., Rikirsch R., Kasaras A., Fitz M., Chalot M., Wipf D. 2007. Organic nitrogen transport in the ectomycorrhiza on the basis of the Hebeloma cylindrosporum-Pinus pinaster association. Phytochem., 68: 41–51.

Nara K. 2006. Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. New Phytol., 169: 169–178.

Nieminen J. K., Setala H. 2001. Influence of carbon and nutrient additions on a decomposer food chain and the growth of pine seedlings in microcosms. App. Soil Ecol., 17: 189–197.

Öpik M., Moora M., Liira J., Kõljalg U., Zobel M., Sen R. 2003. Divergent arbuscular mycorrhizal fungal communities colonize roots of *Pulsatilla* spp. in boreal Scots pine forest and grassland soils. New Phytol., 160: 581–593.

Pachlewski R. 1983. Grzyby symbiotyczne i mikoryza sosny. IBL, 615: 1–132.

Piculell B. J., Hoeksema J. D., Thompson J. N. 2008. Interactions of biotic and abiotic environmental factors in an ectomycorrhizal symbiosis, and the potential for selection mosaics. BMC Biology, 6: 23–34.

Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P. 2000. The rhizosphere as a site of biochemical interactions among soil components, plants, and microorganisms. [W:] Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P. (red.), The Rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. Marcel Dekker, Inc., New York Basel: 1–17.

Read D. J. 2002. Towards ecological relevance – progress in the path towards an understanding of mycorrhizal functions in nature. [W:] Sanders I.R. (red.), Mycorrhizal Ecology. Wyd. M.G.A. Van Der Heiden: 3–29.

Redlak K., Dam H., Ciesielska A., Strzelczyk E. 2001. Enzymatic activity of ectendomycorrhizal fungi. Biol. Fertil. Soils, 33: 83–90.

Rudawska M. 1993. Mikoryza. [W:] Białobok S., Boratyński A., Bugała W. (red.), Biologia sosny zwyczajnej. Sorus, Poznań-Kórnik: 137–182.

Rudawska M. 2000. Rola ektomikoryz w biologicznej ochronie drzew leśnych przed patogenami glebowymi. Sylwan, 4: 27–40.

Sanders I. R. 2002. Mycorrhizal Ecology. Wyd. M.G.A. Van Der Heiden.

Sarjala T., Potila H. 2005. Effect of ectomycorrhizal fungi on nitrogen mineralization and the growth of Scots pine seedlings in natural peat. Plant and Soil, 269: 171–180.

Schoonmaker A. L., Teste F. P., Simard S. W., Guy R. D. 2007. Tree proximity, soil pathways and common mycorrhizal networks: their influence on the utilization of redistributed water by understory seedlings. Oecologia, 154: 455–466.

Simard S. W., Beiler K. J., Bingham M. A., Deslippe J. R., Philip L. J., Teste F. P. 2012. Mycorrhizal networks: mechanisms, ecology and modelling. Fungal Biol. Rev. 26: 39–60.

Simard S. W., Durall D. M. 2004. Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. Can. J Bot., 82: 1140–1165.

Sylvia D. M. 2000. Short root densities and surface phosphatase activities of ectomycorrhizal morphotypes in a Slash Pine plantation, J. Sustain, For., 11: 83–93.

Teste F. P., Simard S. W., Durall D. M. 2009a. Role of mycorrhizal networks and tree proximity in ectomycorrhizal colonization of planted seedlings. Fungal Ecol., 2: 21–30.

Teste F. P., Simard S. W., Durall D. M., Guy R. D., Jones M. D., Schoonmaker A. L. 2009b. Access to mycorrhizal networks and roots of trees: Importance for seedling survival and resource transfer. Ecology, 90: 2808–2822.

Trautwig A.N., Eckhardt L.G., Loewenstein N.J., Hoeksema J.D., Carter E.A., Nadel R.L. 2017. Cogongrass (*Imperata cylindrica*) Affects above and belowground processes in commercial loblolly pine (*Pinus taeda*) stands. For. Sci., 63: 10–16.

Turnau K., Jurkiewicz A., Grzybowska B. 2002. Rola mikoryzy w bioremediacji terenów zanieczyszczonych. Kosmos, 51: 185–194.

Van Der Heijden M. G. A., Bardgett R. D., Van Straalen N. M. 2008. The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. Ecol. Lett. 11: 296–310.

Van der Heijden M. G. A., Horton T. R. 2009. Socialism in soil? The importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystems. J Ecol., 97:1139–1150.

Van Tichelen K. K., Colpaert J. V., Vangronsveld J. 2001. Ectomycorrhizal protection of *Pinus sylvestris* against copper toxicity. New Phytol., 150: 203–213.

Warren J. M., Brooks J. R., Meinzer F. C., Eberhart J. L. 2008. Hydraulic redistribution of water from *Pinus ponderosa* trees to seedlings: evidence for an ectomycorrhizal pathway. New Phytol., 178: 382–394.

Whitfield J. 2007. Underground networking. Nature, 449:136–138

Wilkinson A., Alexander I. J., Johnson D. 2011. Species richness of ectomycorrhizal hyphal necromass increases soil CO_2 efflux under laboratory conditions. Soil Biol. Biochem., 43: 1350–1355.

10 Zróżnicowanie biologiczne grzybów z rodzaju *Malassezia* a patogeneza zakażeń i wrażliwość szczepów na leki

Urszula **Czyżewska**[1] / Marek **Bartoszewicz**[2]
Magdalena **Siemieniuk**[1] / Adam **Tylicki**[1]

[1] Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny,
Instytut Biologii, Zakład Cytobiochemii
ul. K. Ciołkowskiego 1J, 15–245 Białystok
e-mail: urszula.czyzewska@uwb.edu.pl

[2] Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny
Instytut Biologii, Zakład Mikrobiologii
ul. K. Ciołkowskiego 1J, 15–245 Białystok

Streszczenie: Grzyby z rodzaju *Malassezia* są składnikiem mikrobioty skóry ludzi oraz zwierząt stałocieplnych. Należą do tzw. patogenów oportunistycznych, które w odpowiednich warunkach (immunosupresja, zaburzenia hormonalne i metaboliczne) zdolne są do wywołania choroby. Obecnie w obrębie tego rodzaju wyróżniamy 17 gatunków, które można podzielić na zoofilne (8) i antropofilne (9). U ludzi drożdżaki te są czynnikiem etiologicznym lub wikłającym łupieżu pstrego, łojotokowego zapalenia skóry, atopowego zapalenia skóry, zapalenia mieszków włosowych oraz łuszczycy, natomiast u zwierząt: zapalenia ucha zewnętrznego, łojotokowego oraz atopowego zapalenia skóry. Obserwowany jest również transfer tych grzybów pomiędzy zwierzętami a ludźmi. Dotyczy to przede wszystkim zoofilnego *M. pachydermatis*. Zdrowi ludzie mogą być potencjalnymi wektorami tego grzyba, pomiędzy zwierzętami a noworodkami oraz pacjentami szpitali, leczonymi immunosupresyjnie. Obecnie pojawia się coraz więcej informacji na temat różnorakiej wrażliwości na leki szczepów *M. pachydermatis* – w zależności od źródła ich pochodzenia. Szczepy od zwierząt i ludzi chorych charakteryzują się niższą wrażliwością na większość stosowanych antybiotyków w porównaniu ze szczepami od zwierząt i ludzi zdrowych. Zjawisko lekooporności narasta i powinno być wnikliwie monitorowane, a zainteresowania badaczy powinny iść w kierunku poszukiwania nowych środków przeciwgrzybiczych, a także definiowania różnic na poziomie biochemicznym i molekularnym pomiędzy szczepami w celu poprawy diagnostyki i skuteczności leczenia.

Słowa kluczowe: antybiotyki, drożdżaki, lekooporność, zakażenia oportunistyczne

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 148-159

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

Grzyby są bardzo zróżnicowaną grupą organizmów żywych, które pomimo zasiedlania różnorodnych nisz ekologicznych i powszechnej obecności w środowisku, są dosyć słabo poznane (Hawksworth, Rossman 1997). Biorąc pod uwagę aspekt kliniczny, grzyby są poważnym problemem dla zdrowia ludzi i zwierząt. Posiadają one szereg cech umożliwiających wywoływanie wielu chorób – od grzybic powierzchniowych począwszy, poprzez zakażenia układowe, na ogólnoustrojowych kończąc. Patogeny grzybowe można podzielić na: dermatofity, grzyby pleśniowe, dimorficzne oraz drożdżaki oportunistyczne, do których należą, między innymi grzyby z rodzaju *Malassezia* (Typ: *Basidomycota*, Podtyp: *Ustilaginomycotina*, Klasa: *Malasseziomycetes*, Rząd: *Malasseziales*; Wang i in. 2014). Drożdżaki te są składnikiem mikrobioty zarówno ludzi, jak i zwierząt stałocieplnych. W sytuacji, gdy w organizmie gospodarza wystąpią różnego rodzaju zaburzenia metaboliczne, immunologiczne czy hormonalne, grzyby te zdolne są do infekcji i wywoływania objawów klinicznych (Tragiannidis i in. 2010; Gaitanis i in. 2012; Saunders i in. 2012).

2. Charakterystyka rodzaju *Malassezia*

Historia związana z badaniami i obserwacjami grzybów należących do rodzaju *Malassezia* sięga roku 1846, kiedy to Eichstedt wyizolował komórki tych drożdżaków z materiału pobranego od pacjenta chorego na łupież pstry (Zawirska, Adamski 2004). Obecnie poznano 17 gatunków *Malassezia* (Wu i in. 2015; Cabañes i in. 2016; Honnavar i in. 2016). Drożdżaki te różnią się między sobą budową morfologiczną. Kolonie mogą być gładkie, miękkie i płaskie (np. *M. sympodialis*) lub szorstkie, sercowate i kruche (np. *M. globosa*). Kolonie mają barwę od kremowej do beżowej. Kształt komórki może być owalny (*M. furfur*), jajowaty (*M. sympodialis*), cylindryczny (*M. pachydermatis*) lub sferyczny (*M. globosa*), a jej wielkość waha się od 2 do 8 μm (Jagielski i in. 2013). Spośród 17 gatunków *Malassezia*, aż 16 charakteryzuje się lipidozależnością. Jedynie *M. pachydermatis* jest lipidoniezależny. Biorąc pod uwagę budowę komórki, cechą charakterystyczną całego rodzaju jest gruba, wielowarstwowa ściana komórkowa (Ashbee, Evans 2002).

Gatunki *Malassezia* uznawane za patogeny zwierząt (zoofilne) oraz ludzi (antropofilne) przedstawia tabela 10.1.

Tabela 10.1. Podział rodzaju *Malassezia* na gatunki zoofilne i antropofilne

Gatunki rodzaju *Malassezia*			
zoofilne		antropofilne	
M. pachydermatis	*M. nana*	*M. furfur*	*M. globose*
M. caprae	*M. equine*	*M. sympodialis*	*M. dermatis*
M. slooffiae	*M. cuniculi*	*M. restricta*	*M. obtuse*
M. psittaci	*M. brasiliensis*	*M. japonica*	*M. yamotoensis*
		M. arunalokei	

3. Choroby wywoływane przez *Malassezia*

Drożdżaki *Malassezia* wchodzą w skład komensalnej bioty skóry ludzi oraz zwierząt stałocieplnych, izolowane są od niemal 50% zdrowych osobników (Rojas i in. 2017). Do najczęściej izolowanych gatunków od ludzi zdrowych należą: *M. globosa* (ok. 36%) i *M. sympodialis* (ok. 30%; Gaitanis i in. 2012), natomiast od zwierząt, szczególnie psów i kotów – *M. pachydermatis* (do 80%; Cafarchia i in. 2005; Nakano i in. 2005). U ludzi miejscami, w których najczęściej występują grzyby z rodzaju *Malassezia*, są: skóra klatki piersiowej, okolice międzyłopatkowe, włosy, uszy, skóra czoła i policzków. Stwierdza się różnice w zasiedlaniu ciała przez grzyby z rodzaju *Malassezia* w zależności od płci gospodarza. U mężczyzn grzyby te obserwuje się częściej w dolnych częściach tułowia oraz na górnej części ud. U zwierząt natomiast grzyby te zasiedlają najczęściej część twarzową, okolice kanału słuchowego, szyi, okolice pachowe, klatkę piersiową, brzuch, okolice międzypalcowe i podeszwowe łap (Dworecka-Kaszak, Adamski 2005). Z racji, że drożdżaki *Malassezia* uznawane są za typowych oportunistów, uważa się, że objawy chorobowe pojawiają się w momencie powstania zaburzeń metabolicznych, dysfunkcji układu immunologicznego lub hormonalnego organizmu gospodarza (Gaitanis i in. 2012). Największa liczba przypadków chorób wywoływanych przez *Malassezia* notowana jest w Azji, co najprawdopodobniej ma związek z panującym tam klimatem (Prohic i in. 2016). Do najczęstszych chorób wiązanych z *Malassezia* występujących u ludzi zaliczamy: łupież pstry, łojotokowe zapalenie skóry, atopowe zapalenie skóry, zapalenie mieszków włosowych oraz łuszczycę. U zwierząt najczęściej spotyka się zapalenie ucha zewnętrznego, łojotokowe oraz atopowe zapalenie skóry. Dominujące gatunki grzybów izolowane z klinicznych przypadków poszczególnych chorób przedstawia tabela 10.2.

Tabela 10.2. Najczęstsze choroby kojarzone z grzybami z rodzaju *Malassezia* u ludzi i zwierząt

	Jednostka chorobowa	Dominujący gatunek	Udział gatunku dominującego (% przypadków)	Stosowane antybiotyki
ludzie	atopowe zapalenie skóry	*M. sympodialis* *M. globosa*	43 20	klotrimazol mikonazol
	łojotokowe zapalenie skóry	*M. globosa*	37	ketokonazol cyklopiroks
	łupież pstry	*M. globosa* *M. sympodialis*	51 23	ketokonazol
	łuszczyca	*M. globosa*	51	ketokonazol bifonazol
zwierzęta	atopowe zapalenie skóry	*M. pachydermatis*	30	mikonazol klotrimazol
	łojotokowe zapalenie skóry	*M. pachydermatis*	30	ketokonazol natamycyna
	zapalenie ucha zewnętrznego	*M. pachydermatis*	30–80	ketokonazol natamycyna

Źródło: Kumar i in. 2002; Woźniak, Nowicki 2007; Negre i in. 2009; Gaitanis i in. 2012.

Łupież pstry (*pityriasis versicolor*) jest chorobą, z którą grzyby z rodzaju *Malassezia* są ewidentnie związane. W trakcie rozwoju choroby obserwuje się szybki wzrost komórek tych drożdżaków, a także zmianę morfologii grzyba z formy drożdżopodobnej na mycelialną. Chorobę tę notuje się przede wszystkim w klimacie tropikalnym, gdyż wysoka temperatura i wilgotność ułatwiają jej rozwój. Innymi czynnikami sprzyjającymi, są: nadmierna czynność gruczołów łojowych, nadmierne pocenie, zaburzenia odporności, stosowanie kortykosteroidów. Objawem choroby jest przede wszystkim zmiana pigmentacji skóry, a dużym problemem terapeutycznym jest wysoka nawrotowość tej choroby (Farr, Shuster 1984; Zawirska, Adamski 2004). Z klinicznych przypadków łupieżu pstrego najczęściej izolowane są *M. globosa* i *M. sympodialis* (Tab. 10.2).

Łojotokowe zapalenie skóry (*seborrheic dermatitis*) to choroba objawiająca się stanem zapalnym, dotykająca ludzi w każdym wieku niezależnie od strefy klimatycznej. Najwyższą zachorowalność obserwuje się wśród noworodków oraz osób w wieku 50-60 lat (Kim 2009). Objawy choroby występują przede wszystkim na klatce piersiowej, plecach, skórze głowy, czyli w miejscach bogatych w gruczoły łojowe. Niestety, skuteczność leczenia ocenia się jedynie na około 75% (Farr, Shus-

ter 1984; Zawirska, Adamski 2004). Gatunkiem z rodzaju *Malassezia* izolowanym z większości przypadków jest *M. globosa* (Tab. 10.2).

Atopowe zapalenie skóry (*atopic dermatitis*) to przewlekła choroba ludzi, której głównym objawem jest świąd. Najczęściej notowana jest u dzieci, jednak chorują również osoby dorosłe (Brucka-Stempkowska i in. 2009). Jest to schorzenie wieloczynnikowe, w którym rolę odgrywają drożdżaki z rodzaju *Malassezia*, które u wrażliwych pacjentów działają jako czynnik wikłający i alergenny (Ashbee 2006). Spośród gatunków *Malassezia*, ze zmian chorobowych najczęściej izoluje się *M. globosa* i *M. sympodialis* (Tab. 10.2).

W przypadku **zapalenia mieszków włosowych (*Malassezia folliculitis*)**, grzyby z rodzaju *Malassezia* rozwijają się w skórze oraz mieszkach włosowych, na skutek czego pojawiają się rumieniowe grudki oraz krostki. Choroba rozwija się przede wszystkim na tułowiu i ramionach (Rup i in. 2013). Za zmiany skórne, w przypadku tej choroby, najczęściej odpowiada *M. furfur* (Tab. 10.2). Schorzenie to stwarza duże problemy we właściwej diagnozie i leczeniu, ponieważ jego objawy są bardzo podobne do objawów innych stanów zapalnych skóry (Gaitanis i in. 2013; Rubenstein, Malerich 2014).

Łuszczyca (*psoriasis*) jest to przewlekła, zapalna choroba skóry. Grzyby z rodzaju *Malassezia* mają udowodniony związek z tą chorobą, niemniej jednak do częstych czynników etiologicznych należy również zaliczyć infekcje paciorkowcami beta-hemolizującymi i grzybami z rodzaju *Candida*. Obecność *Malassezia* stwierdza się przede wszystkim w przypadkach łuszczycy owłosionej skóry głowy oraz okolic narządów płciowych (Gaitanis i in. 2012; Rup i in. 2013). Gatunkiem z rodzaju *Malassezia* najczęściej izolowanym z przypadków tej choroby jest *M. globosa* (Tab. 10.2).

Zapalenie ucha zewnętrznego (*otitis externa*), powodowane przez *Malassezia*, stwierdza się stosunkowo często u psów oraz kotów (Święcicka i in. 2015). Do najczęstszych objawów tego schorzenia należą: ból ucha, świąd, wysięk o nieprzyjemnym zapachu. Pojawieniu się choroby sprzyjają, między innymi: duża liczba gruczołów łojowych, wąskie kanały słuchowe oraz obfite owłosienie uszu zwierząt (Sapierzyński 2009).

4. Transfer grzybów z rodzaju *Malassezia* pomiędzy ludźmi a zwierzętami

Mimo, iż wśród gatunków z rodzaju *Malassezia* można wyróżnić zoofilne i antropofilne (Tab. 10.1), obserwowany jest transfer tych grzybów pomiędzy zwierzętami a ludźmi. Dane z literatury dotyczą przede wszystkim *M. pachydermatis* jako, że jest to gatunek najpowszechniej występujący u zwierząt. Obecność *M. pachydermatis* u człowieka jest raczej przemijająca, a ze zdrowej ludzkiej skóry jest rzadko izolowany. Jednak grzyb ten może stanowić przykład zoofilnego oportunisty wiązanego coraz częściej z chorobami grzybiczymi ludzi. Najczęściej wywołuje on różnego rodzaju powierzchniowe zmiany skórne. Znane są także przypadki infekcji układowych w sytuacjach obniżonej odporności gospodarza oraz u noworodków odżywianych pozajelitowo przebywających na oddziałach intensywnej terapii (Gueho 1987; Chang i in. 1998; Gueho i in. 1998; Dworecka-Kaszak 2004; Al-Sweih i in. 2014). Grzybica systemowa wywołana przez *M. pachydermatis* została po raz pierwszy zdiagnozowana u człowieka w 1983 roku. Był to pacjent chory na cukrzycę typu 1, ambulatoryjnie dializowany otrzewnowo (Fine i in. 1983). Okazało się, że ludzie zdrowi mogą być potencjalnymi wektorami *M. pachydermatis*, głównie osoby z personelu medycznego, które posiadają psy. W przypadkach nieprzestrzegania procedur antyseptycznych, mogą one przenosić grzyby ze swoich zwierząt na pacjentów szpitali. Noworodki, pacjenci z deficytami immunologicznymi oraz leczeni immunosupresyjnie, stanowią grupę najbardziej narażoną na tego typu zakażenia (Chang i in. 1998; Gueho 1987).

5. Podatność na leki i lekooporność wśród *Malassezia*

Opisując wrażliwość grzybów *Malassezia* na różnego rodzaju leki, można posłużyć się przykładem *M. pachydermatis*, ponieważ jest on gatunkiem, który najczęściej jest przenoszony ze zwierząt na człowieka i stanowi dla ludzi największe zagrożenie spośród gatunków zoofilnych. Obecnie pojawia się coraz więcej informacji na temat różnej wrażliwości szczepów *M. pachydermatis* na stosowane w terapiach grzybic leki. Badania prowadzone były z podziałem na szczepy pochodzące od zwierząt chorych i zdrowych. Dane zestawione w tabeli 10.3 wskazują, iż szczepy pochodzące od zwierząt chorych charakteryzują się niższą wrażliwością na większość stosowanych leków. Różnice w wartościach MIC (minimalne stężenie hamujące, *ang. Minimal Inhibitory Concentration*) wynoszą od 2 razy – w przypad-

ku amfoterycyny B, do 100 razy – w przypadku flukonazolu. Wartości te potwierdzają rozwój zjawiska lekooporności wśród *Malassezia*, szczególnie w przypadku powszechnie stosowanych antybiotyków. Yurayart i in. (2013) stwierdzili oporność szczepów *M. pachydermatis* na flucytozynę niezależnie od źródła pochodzenia, natomiast szczepy od chorych psów charakteryzowały się zwiększoną opornością na terbinafinę, ketokonazol i itrakonazol. Podobne wyniki uzyskano w Japonii, Korei, Tajwanie i Włoszech, co może sugerować, że nie jest to wyłącznie trend lokalny, a ogólnoświatowy, któremu sprzyja powszechne stosowanie środków przeciwgrzybiczych (Cafarchia i in. 2012; Watanabe i in. 2014). O ewolucji oporności grzybów na antymykotyki mogą świadczyć badania prowadzone na szczepach *M. pachydermatis* izolowanych od psów chorych na ostre i chroniczne zapalenie ucha zewnętrznego. Wykazano, że szczepy pochodzące z przypadków chronicznego zapalenia ucha, charakteryzowały się dwukrotnie większą opornością na mikonazol i klotrimazol (Chiavassa i in. 2014). Proces długotrwałej terapii środkami przeciwgrzybiczymi może w tym przypadku stanowić czynnik selekcyjny, promujący oporne genotypy.

Tabela 10.3. Wartości MIC* dla wybranych antybiotyków w odniesieniu do szczepów *Malassezia pachydermatis* różnego pochodzenia

Antybiotyk	Wartość MIC (μg/ml)	
	szczepy od zdrowych psów	szczepy od chorych psów
amfoterycyna B	0,08	0,18
flukonazol	0,07	7,05
itrakonazol	0,04	0,95
ketokonazol	0,05	0,47
klotrimazol	0,07	2,08
mikonazol	0,22	0,92
nystatyna	0,08	1,62
posakonazol	0,02	0,02
terbinafina	0,99	0,82
vorikonazol	0,31	0,10

*MIC – minimalne stężenie hamujące (ang. *Minimal Inhibitory Concentration*)

Źródło: Cafarchia i in. 2012; Weiler i in. 2013; Yurayart i in. 2013; Chiavassa i in. 2014; Watanabe i in. 2014.

Wrażliwość na antybiotyki szczepów *M. pachydermatis*, izolowanych od chorych ludzi i zwierząt przedstawia tabela 10.4. Z przedstawionych danych wynika, że szczepy ludzkie były około 36 razy bardziej odporne na działanie flucytozyny.

Pozostałe antymykotyki wykazywały podobną aktywność wobec wszystkich badanych szczepów. Można przypuszczać, że zmniejszona podatność na dostępne antymykotyki oraz zjawisko oporności na nie może dotyczyć także pozostałych gatunków z rodzaju *Malassezia*, niezależnie od źródła ich pochodzenia (ludzie/zwierzęta, osobniki zdrowe/chore). Zjawisko oporności na leki wśród grzybów powinno być monitorowane w celu kontrolowania postępu tego procesu (Cafarchia i in. 2012; Weiler i in. 2013; Yurayart i in. 2013; Al-Sweih i in. 2014; Chiavassa i in. 2014; Watanabe i in. 2014).

Tabela 10.4. Porównanie wartości MIC* dla wybranych antybiotyków w odniesieniu do szczepów *Malassezia pachydermatis* izolowanych od chorych na grzybice ludzi oraz zwierząt

Antybiotyk	Wartość MIC (µg/ml)	
	szczepy izolowane od ludzi	szczepy izolowane od zwierząt
amfoterycyna B	0,22	0,18
flukonazol	≥256	7,05
posakonazol	0,02	0,02
vorikonazol	0,10	0,10

*MIC – minimalne stężenie hamujące (ang. *Minimal Inhibitory Concentration*)

Źródło: opracowano na podstawie: Al-Sweih i in. 2014; Cafarchia i in. 2012; Weiler i in. 2013; Yurayart i in. 2013; Chiavassa i in. 2014; Watanabe i in. 2014.

6. Podsumowanie

Grzyby z rodzaju *Malassezia* stanowią obecnie poważne wyzwanie diagnostyczne i terapeutyczne. Dodatkowo, coraz częściej stwierdza się ograniczenie wrażliwości tych grzybów na powszechnie stosowane leki (Watanabe i in. 2014), a gatunki uznawane za typowo zoofilne, izoluje się również od chorych i zdrowych ludzi (Prohic, Kasumagic-Halilovic 2009). Grzyby te wywołują liczne choroby skóry, a także nasilają objawy schorzeń wywołanych przez inne czynniki. Charakteryzują się dużym zróżnicowaniem odpowiedzi na działanie różnego rodzaju antymykotyków. Można zaobserwować, że wartości MIC wobec powszechnie stosowanych antymykotyków stają się coraz wyższe, a zjawisko postępującej lekooporności wśród grzybów powinno być wnikliwie kontrolowane. Istotnym jest fakt, że szczepy izolowane od zwierząt zdrowych i chorych wykazują różną wrażliwość na stosowane leki. Wartości MIC dla szczepów *M. pachydermatis* pochodzących od psów chorych, były wyższe niż dla szczepów od psów zdrowych – w przypadku większo-

ści stosowanych antybiotyków. Biorąc pod uwagę możliwość kumulacji antybiotyków w środowisku, można prognozować ewolucję cech oporności charakterystycznych dla różnych szczepów grzybów (w zależności od źródła pochodzenia). Czynnikiem selekcyjnym są w tym przypadku antymykotyki, które, dzięki powszechnemu stosowaniu, wpływają nie tylko na szczepy potencjalnie patogenne, ale również komensalne powszechnie występujące w naszym środowisku. Szczepy te mogą stanowić rezerwuar cech lekooporności nabytej w wyniku ekspozycji grzybów nawet na śladowe ilości leków. Dlatego też należy prowadzić badania nad nowymi lekami przeciwgrzybiczymi, jak również nad wykorzystaniem addytywnego lub synergistycznego działania różnych dostępnych środków, co może prowadzić do obniżenia skutecznych dawek znanych leków, utrzymując bez zmian lub nawet zwiększając ich skuteczność. Szczególnie istotne może być wprowadzanie do praktyki medycznej antymetabolitów o działaniu grzybostatycznym w kombinacji z powszechnie stosowanymi antybiotykami. Przykładem perspektywicznych związków w tym aspekcie mogą być antywitaminy tiaminy (Siemieniuk i in. 2016).

Podziękowania

Artykuł częściowo sfinansowany z grantu NCN – DEC-2013/11/N//NZ6/02567.

Literatura

Al-Sweih N., Ahmad S., Joseph L., Khan S., Khan Z. 2014. *Malassezia pachydermatis* fungemia in a Praterm neonate resistant to fluconazole and flucytosine. Med. Mycol. Case Rep., 5: 9–11.

Ashbee H. R. 2006. Recent development in the immunology and biology of *Malassezia* species. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 47: 14–23.

Ashbee H. R., Evans E. G. 2002. Immunology of diseases associated with *Malassezia* species. Clin. Microbiol. Rev., 15: 21–57.

Brucka-Stempkowska A., Kubik D., Lesiak A., Narbutt J. 2009. Atopowe zapalenie skóry – diagnostyka różnicowa zmian chorobowych. Alergia, Astma, Immunologia, 14: 223–229.

Cabañes F. J., Coutinho S. D., Puig L., Bragulat M. R., Castella G. 2016. New lipid-dependent *Malassezia* species from parrots. Rev. Iberoam. Microl., 33: 92–99.

Cafarchia C., Figueredo L. A., Iatta R., Montagna M. T., Otranto D. 2012. *In vitro* antifungal susceptibility of *Malassezia pachydermatis* from dogs with and without skin lesions. Vet. Microbiol., 155: 395–398.

Cafarchia C., Gallo S., Romito D., Capelli G., Chermette R., Guillot J., Otranto D. 2005. Frequency, body distribution, and population size of *Malassezia* species in health dogs and in dogs with localized cutaneous lesions. J. Vet. Diagn. Invest., 17: 316–322.

Chang H. J., Miller H. L., Watkins N., Arduino M. J., Ashford D. A., Midgley G., Aguero S. M., Pinto-Powell R., von Reyn C. F., Edwards W., Mc Neil M. M., Jarvis W. R. 1998. An epidemic of *Malassezia pachydermatis* in an intensive care nursery associated with colonization of health care workers' pet dogs. Nev. Eng. J. Med., 338: 706–711.

Chiavassa E., Tizzani P., Peano A. 2014. *In vitro* antifungal susceptibility of *Malassezia pachydermatis* strains isolated from dogs with chronic and acute *otitis externa*. Mycopathol., 178: 315–319.

Dworecka-Kaszak B. 2004. *Malassezia* infections. Mikologia Lek., 11: 323–327.

Dworecka-Kaszak B., Adamski Z. 2005. Zakażenia grzybami z rodzaju *Malassezia*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.

Farr P. M., Shuster S. 1984. Treatment of *seborrhoeic dermatitis* with topical ketoconazole. British J. Dermatol., 2: 1271–1272.

Fine R. N., Salusky I. B., Hall T., Lucullo L., Jordan S. C., Ettenger R. B. 1983. Peritonitis in children undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. Pediatrics, 71: 806–809.

Gaitanis G., Magiatis P., Hantschke M., Bassukas I. D., Velegraki A. 2012. The *Malassezia* genus in skin and systemic diseases. Clin. Microbiol. Rev., 25: 106–141.

Gaitanis G., Velegraki A., Mayser P., Bassukas I. D. 2013. Skin diseases associated with *Malassezia* yeasts: facts and controversies. Clin. Dermatol., 31: 455–463.

Gueho E., Boekhout T., Ashbee H. R., Guillot J., Van Belkum A., Faergemann J. 1998. The role of *Malassezia* species in the ecology of human skin and as pathogens. Medicine Mycology, 36: (Suppl. 1) 220–229.

Gueho E., Simmons B., Pruitt W. R., Meyer S. A., Ahearn D. G. 1987. Association of *Malassezia pachydrematis* with systemic infections of human. J. Clin. Microbiol., 25: 1789–1790.

Hawksworth D. L., Rossman A. Y. 1997. Where are all the Undescribed Fungi? Mini-Review. Phytopathology, 87: 888–891.

Honnavar P., Prasad G. S., Ghosh A., Dogra S., Handa S., Rudramurthy S. N. 2016. *Malassezia arunalokei* sp. nov., a novel yeast species isolated from *seborrheic dermatitis* patients and healthy individuals from India. J. Clin. Microbiol., 54: 1826–1834.

Jagielski T., Rup E., Macura A. B., Bielecki J. 2013. Charakterystyka grzybów z rodzaju *Malassezia*. I. Aspekty mikrobiologiczne i immunologiczne. Postep. Mikrobiol., 52: 295–305.

Kim G. K. 2009. Seborrheic Dermatitis and *Malassezia* species: how are they related? J. Clin. Aesth. Dermatol., 2: 14–17.

Kumar A., Singh K., Sharma A. 2002. Prevelence of *Malassezia pachydermatis* and other organisms in health and infected dog ears. Israel. J. Vet. Med., 57: 145–148.

Nakano Y., Wada M., Tani H., Sasai K., Baba E. 2005. Effect of β-thujaplicin on anti-*Malassezia pachydermatis* remedy for canine *otitis externa*. J. Vet. Med. Sci., 76: 1243–1247.

Negre A., Bensignor E., Guillot J. 2009. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of interventions for *Malassezia dermatitis* in dogs. Vet. Dermatol., 20: 1–12.

Prohic A., Jovovic Sadikovic T., Krupalija-Fazlic M., Kuskunovic-Vlahovljak S. 2016. *Malassezia* species in healthy skin and in dermatological conditions. Int. J. Dermatol., 55: 494–504.

Rojas F. D., Cordoba S. B., de los Angeles Sosa M., Zalazar L. C., Fernandez M. S., Cattana M. E., Alegre L. R., Carrillo-Munoz A. J., Giusiano G. E. 2017. Antifungal susceptibility testing of *Malassezia* yeast: comparision of two different methodologies. Mycoses, 60: 104–111.

Rubenstein R. M., Malerich S. A. 2014. *Malassezia (Pityrosporum)* Folliculitis. The J. Clin. Aesthet. Dermatol., 7: 37–41.

Rup E., Jagielski T., Macura A., Bielecki J. 2013. Charakterystyka grzybów z rodzaju *Malassezia*. II. Aspekty kliniczne. Post. Mikrobiol., 52: 307–314.

Sapierzyński R. 2009. Zapalenie ucha zewnętrznego u psów. Med. Wet., 65: 552–556.

Saunders C. W., Scheynius A., Heitman J. 2012. *Malassezia* fungi are specialised to live on skin and associated with dandruff, eczema and Rother skin deseases. PLos Pathol., 8: e1002701, doi: 10.1371/journal.ppat.1002701.

Siemieniuk M., Czyżewska U., Strumiło S., Tylicki A. 2016. Thiamine antivitamins – an opportunity of therapy of fungal infections caused by *Malassezia pachydermatis* and *Candida albicans*. Mycoses, 59: 108–116.

Święcicka N., Bernacka H., Fac E., Zawiślak J. 2015. Prevalence and commonest causes for *otitis externa* in dogs from two polish veterinary clinics. Bulg. J. Vet. Med., 18: 65–73.

Tragiannidis A., Bisping G., Koehler G., Groll A. H. 2010. Minireview: *Malassezia* infections in immunocompromised patients. Mycoses, 53: 187–195.

Wang Q. M., Theelen B., Groenewald M., Bai F. Y., Boekhout T. 2014. *Moniliellomycetes* and *Malasseziomycetes*, two new classes in *Ustilagiomycotina*. Personia-Mol. Phylogeny. Evol. Fungi, 33: 41–47.

Watanabe S., Koike A., Kano R., Nagata M., Chen C., Hwang C., Hasegawa A., Kamata H. 2014. *In vitro* susceptibility of *Malassezia pachydermatis* isolates from canine skin with atopic dermatitis to ketokonazole and intraconazole in east Asia. J. Vet. Med. Sci., 76: 579–581.

Weiler C. B., Kunz de Jesus F. P., Nardi G. H., Loreto E. S., Santurio J. M., Coutinho S. D., Alves S. H. 2013. Susceptibility variation of *Malassezia pachydermatis* to antifungal agents according to isolate source. Braz. J. Microbiol., 44: 174–178.

Woźniak M., Nowicki R. 2007. Rola grzybów *Malassezia spp*. w etiopatogenezie chorób skóry. Mikol. Lek., 14: 265–269.

Wu G., Zhao H., Li C., Rajapakse M. P., Wong W. C., Xu J., Saunders C. W., Reeder N. L., Reilman L. A., Scheynius A., Sun S., Billmyre B. R., Li W., Averette A. F., Mieczkowski P., Heitman J., Theelen B., Schröder M. S., De Sessions P. F., Butler G., Maurer-Stroh S., Boekhout T., Nagarajan N., Dawson T. L. 2015. Genus-wide comparative genomics of *Malassezia* delineates its phylogeny, physiology, and niche adaptation on human skin. PLoS Genet., 11: e1005614. doi:10.1371/journal.pgen.1005614.

Yurayart C., Nuchnoul N., Moolkum P., Jirasuksiri S., Niyomtham W., Chindamporn A., Kajiwara S., Prapasarakul N. 2013. Antifungal agent susceptibilities and interpretation of *Malassezia pachydermatis* and *Candida parapsilosis* isolated from dogs with and without seborrheic dermatitis skin. Med. Mycol., 51: 721–730.

Zawirska A., Adamski Z. 2004. Grzyby z rodzaju *Malassezia*. Nowe informacje. Post. Dermatol. Alergol., 21: 97–103.

11 Absorpcja światła i budowa systemów antenowych u organizmów fotosyntetycznych eukariotycznych

Paweł **Rogowski** / Wioleta **Wasilewska-Dębowska**
Aleksandra **Urban** / Elżbieta **Romanowska**

Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii
Instytut Botaniki, Zakład Molekularnej Fizjologii Roślin

ul. Miecznikowa 1, 02–096 Warszawa
e-mail: romanela@biol.uw.edu.pl

Streszczenie: Badanie fotosyntezy różnych grup organizmów dostarcza ważnych informacji o ewolucji procesu i przystosowaniach roślin do środowiska. Absorpcja światła i transport elektronów podlegają odmiennej regulacji u roślin wyższych oraz u innych organizmów eukariotycznych. Systemy antenowe uczestniczą zarówno w absorpcji światła, jak i w ochronie przed fotoinhibicją. Występują różnice zarówno w rodzaju występujących barwników, jak też w budowie anten białkowo-barwnikowych, zależnie od warunków wzrostu roślin. Prokariotyczne sinice i eukariotyczne glony czerwone posiadają anteny zewnętrzne – fikobilisomy, zawierające fikobiliny (np. fikoerytrynę, fikocyjaninę, allofikocyjaninę), natomiast u glonów zielonych i roślin wyższych występują systemy antenowe wewnętrzne, zawierające chlorofil *a* i *b* (LHC) oraz karotenoidy. U organizmów eukariotycznych warunki środowiska wpływają zarówno na budowę błon tylakoidowych chloroplastów, jak i supramolekularną organizację kompleksów, co optymalizuje wiązanie CO_2 w fotosyntezie.

Słowa kluczowe: anteny barwnikowe, chloroplasty, fikobilisomy, środowisko, światło.

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 160-171

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

Ilość promieniowania docierającego do roślin wyraża intensywność napromienienia PAR, która opisywana jest jako strumień fotonów z zakresu 400–700 nm, padający na jednostkę powierzchni w jednostce czasu (μmole fotonów m^{-2} s^{-1}). Jakość promieniowania rozumiana jest jako długość fali i odpowiadająca jej barwa (fioletowa 400–450 nm, niebieska 450–500 nm, zielona 500–550 nm, żółta 550–600 nm, pomarańczowa 600–650 nm, czerwona 650–700 nm). Czas napromienienia decyduje o sumarycznej ilości PAR pochłoniętej przez organy fotosyntetyzujące. Kierunek padania promieni świetlnych względem powierzchni blaszki liściowej ma wpływ na ilość pochłanianego promieniowania przez roślinę, a jakość światła absorbowanego przez barwniki asymilacyjne zależy od ich właściwości spektralnych. Zmiany ilości i jakości lokalnej promieniowania w stosunku do pełnego oświetlenia obserwuje się np. wewnątrz łanu roślin, pod baldachimem koron drzew oraz w obrębie korony pojedynczego drzewa. Zdolność barwników asymilacyjnych do pochłaniania światła wiąże się z ich budową chemiczną. Występowanie wiązań sprzężonych w pierścieniu chlorofilu, łańcuchu karotenoidów i fikobilin wpływa na pochłanianie kwantów światła o odpowiedniej długości fali i wzbudzanie cząsteczki barwnika. Absorpcja światła i emisja ciepła są kluczowe dla wydajnej produkcji ATP oraz czynników redukcyjnych niezbędnych do wiązania CO_2. Efektywne przenoszenie energii wzbudzenia wymaga: (1) akumulacji barwników fotosyntetycznych, (2) bliskiego kontaktu systemów antenowych z centrum reakcji, co limituje przebieg fazy jasnej fotosyntezy. Jest również głównym czynnikiem warunkującym rozwój miękiszu zieleniowego liści, syntezę chlorofilu, powstawanie chloroplastów z proplastydów oraz ich rozmieszczenie w komórkach. Jednak tylko część energii padającej na liść jest wykorzystywana jest do produkcji asymilantów.

1.1. Przystosowania chloroplastów do absorpcji światła u glonów i roślin wyższych

Aktywność fotosyntetyczna zależy zarówno od barwy, jak i intensywności światła oraz od gatunku rośliny. Rośliny cieniolubne, np. zasiedlające runo leśne, największą wydajność fotosyntezy osiągają już przy 1/10 intensywności pełnego światła słonecznego (2000 μmoli fotonów m^{-2} s^{-1}). Rośliny światłolubne, np. zboża, rosną najlepiej przy intensywnym oświetleniu. Zbyt silne światło hamuje fotosyntezę, powodując uszkodzenia głównie fotoukładu II (PSII) (fotoinhibicja). Wzrasta również transpiracja, komórki tracą turgor, szparki zamykają się, hamując dopływ CO_2. W wydajnej absorpcji energii słonecznej kluczową rolę odgrywa budowa błon

tylakoidwych. Transport białek w obrębie membran chloroplastów zależy bowiem od ich „upakowania" w błonie. Organizacja błon regulowana jest przez czynniki środowiskowe, a ich zmiany wiążą się zarówno z procesem transportu elektronów, jak i z procesami naprawczymi.

Organizmy fotosyntetyczne w procesie ewolucji wykształciły szereg mechanizmów umożliwiających im przystosowania do natężenia światła poprzez możliwość zwiększenia lub zmniejszenia ilości białek wiążących barwniki obecne w tylakoidach. Dynamiczne i odwracalne zmiany w organizacji błon tylakoidowych spełniają bardzo ważną rolę w utrzymaniu aktywności fotosyntetycznej roślin w warunkach stresowych. Mechanizm optymalizujący wielkość kompleksów w błonach fotosyntetycznych, regulowany jest poprzez zmiany zawartości metabolitów komórkowych. Modyfikacja białek jest regulowana przez szereg czynników egzogennych i endogennych, takich jak: natężenie światła, temperatura, stan redoks chloroplastów czy zawartość ATP itp. Może ona przejawiać się wzmożoną syntezą kompleksu PSII lub wzrostem aktywności proteaz degradujących kompleks. Adaptacja jest zatem koordynowana poprzez szybkość biosyntezy i degradacji kompleksów w chloroplastach. W reakcjach zależnych od światła, kompleksy antenowe przekazują energię wzbudzenia do centrów reakcji fotoukładu I (PSI) i II (PSII), gdzie inicjowany jest transport elektronów. Białka rdzeniowe PSI i PSII są silnie konserwowane podczas ewolucji u wszystkich organizmów i ich funkcja fotosyntetyczna jest podobna.

Systemy antenowe regulują ilość pochłanianego światła i uczestniczą w ochronie przed fotoinhibicją. U organizmów wodnych, ze względu na różnice w dostępie światła słonecznego, na różnych głębokościach obserwuje się występowanie różnorodnych barwników i systemów antenowych typowych gatunkowo. Zależnie od czynników zewnętrznych, takich jak np. pora dnia, natężenie światła, wykorzystywanie światła jest optymalizowane i towarzyszy temu uruchamianie mechanizmów ochronnych przed reaktywnymi formami tlenu (ROS). Aby zapobiec powstawaniu ROS, rośliny wykształciły enzymatyczne i nieenzymatyczne układy antyoksydacyjne. Najszybciej zmieniającym się czynnikiem środowiskowym jest światło. Aparat fotosyntetyczny jest strukturą pozwalającą na szybkie dostosowanie zarówno do zmian w natężeniu, jak i jakości światła, jak również w stężeniu CO_2. Istnieją dwa główne mechanizmy adaptacyjne, które warunkują wysoką wydajność fotosyntetyczną w warunkach stresu. Odpowiedź szybka, związana jest z rozpraszaniem nadmiaru zaabsorbowanej energii w postaci ciepła, a także z przeorganizowaniem kompleksu antenowego PSII (LHCII) – jest to tzw. przejście stanów (ang. *state transitions*). Przy niskim natężeniu światła, duże systemy antenowe zwiększają jego absorpcję. Długoterminowa adaptacja polega na dostosowaniu stechiometrii PSII

względem PSI na korzyść systemu limitującego transport elektronów. W obu procesach stan redoks puli plastochinononowej (PQ/PQH_2) odpowiedzialny jest za percepcję wzbudzenia i indukowanie kaskady sygnałowej przez kinazy, zależnie od stanu redoks puli PQ. Światło wpływa również na ekspresję genów jądrowych, kodujących białka chloroplastowe. Proces ten jest regulowany w niskich natężeniach światła głównie przez stan redoks puli plastochinonu, a w świetle o wysokim natężeniu – przez stan redoks glutationu, i/lub przez powstające w chloroplastach wolne rodniki tlenowe (Pfannschmidt i in. 2001). W warunkach silnego oświetlenia, powstają reaktywne rodniki tlenowe i zwiększa się ilość utlenionego glutationu, następuje wówczas stymulacja ekspresji genów jądrowych kodujących enzymy odpowiedzialne za neutralizację ROS (Karpiński i in. 1997). Ten rodzaj regulacji ma na celu dostosowanie aparatu fotosyntetycznego rośliny do zmiennych warunków środowiska, nie jest natomiast odpowiedzialny za procesy rozwojowe chloroplastów, które są również regulowane światłem (Surpin i in. 2002).

1.2. Anteny fikobilisomalne

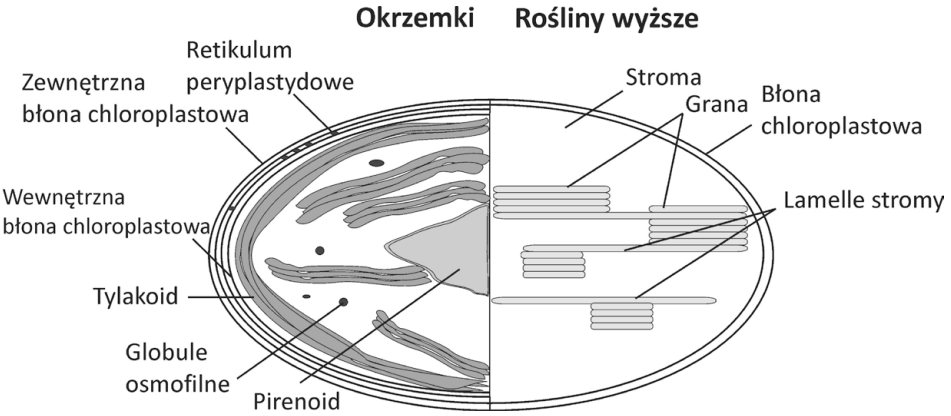
Prokariotyczne sinice i eukariotyczne glony czerwone posiadają anteny zewnętrzne – fikobilisomy (PBS), absorbujące światło w zakresie 550–660 nm. Anteny fikobilisomalne pozwalają na wydajne wykorzystanie światła i przekazanie energii wzbudzenia do centrów reakcji, stanowiąc tym samym adaptację do życia w warunkach niskiego natężenia światła. Budowa PBS umożliwia przekazanie do centrów reakcji ponad 95% zaabsorbowanej energii świetlnej (McColl 1998). W warunkach wysokiego natężenia światła (np. w zakresie 200–500 μmoli fotonów $m^{-2}\ s^{-1}$), fikobilisomy nie są korzystną adaptacją, gdyż nadmierne wzbudzanie fotosystemów może powodować nieodwracalne uszkodzenia aparatu fotosyntetycznego i śmierć komórek. U sinic adaptacja PBS do warunków środowiskowych realizowana jest poprzez zmianę ekspresji białek anten, a nie przez ich dysocjację czy degradację. Anteny fikobilisomalne są stabilne, silnie związane z fotoukładami, natomiast zmiana warunków życia powoduje ich łatwą dysocjację. Jest to szybka droga aklimatyzacyjna, warunkująca utrzymanie wysokiej wydajności fotosyntetycznej. Fikobilisomy sinic zawierają barwnik fikoerytrynę, której brak u niektórych gatunków glonów czerwonych (np. u *Cyanidioschyzon merolae*). Fakt występowania u *C. merolae* fikocyjaniny, allofikocyjaniny i chlorofilu *a* (głównie anteny PSII) wpływa na zakres światła wykorzystywanego w fotosyntezie. U glonów zielonych i roślin wyższych występują systemy antenowe wiążące chlorofil *a* i *b* (LHC), a białka anten kodowane są przez genom jądrowy. U organizmów eukariotycznych, budowa błon i supramolekularna organizacja kompleksów jest dobrze poznana.

Uważa się, że powstanie gran w chloroplastach jest przystosowaniem roślin lądowych do lepszej absorpcji światła przy jego ograniczonej dostępności w warunkach wzrostu.

1.3. Organizacja błon tylakoidowych u okrzemek

U glonów zielonych w chloroplastach (endosymbioza pierwotna) występują tylakoidy ścieśnione i nieścieśnione, nie są one jednak odpowiednikiem błon granowych i stromowych chloroplastów roślin wyższych. U sinic tylakoidy posiadają komponenty zarówno fotosyntetycznego, jak i oddechowego transportu elektronów. Tylakoidy mają układ równoległy do błony chloroplastu. U roślin wyższych chloroplasty zawierają struktury ze ścieśnionymi (grana) i nieścieśnionymi (lamelle stromy) tylakoidami, które zawierają nierównomiernie rozmieszczone kompleksy fotosyntetyczne. PSII znajduje się głównie w granach, natomiast PSI i syntaza ATP w błonach stromowych. Większe różnice występują w przypadku endosymbiozy wtórnej. Dotyczą one zarówno budowy tylakoidów, dystrybucji kompleksów, jak i systemów antenowych (Ryc. 11.1). Szczególnie intensywne badania prowadzone są na okrzemkach, które stanowią główną grupę alg planktonowych i bentosowych, obecnych we wszystkich morzach. Uczestniczą one w 40% w pierwotnej produkcji i w 25% w rocznej produkcji biomasy na Ziemi. Pełnią ważną rolę w biogeochemicznym procesie obiegu krzemu i azotu. Okrzemki powstały w wyniku endosymbiozy wtórnej fotosyntetycznych eukariontów z eukariotycznymi heterotrofami, stąd plastydy okrzemek otoczone są czterema błonami. Genom okrzemek wykazuje wiele podobieństw z genomem zielonych i czerwonych organizmów fotosyntetycznych, jak też i z genomem zwierzęcym. Aktywność fotosyntetyczna okrzemek zależy od natężenia światła docierającego do komórek. Komórki okrzemek mogą przemieszczać się stosownie do ruchów wody z głębi do strefy powierzchniowej, od praktycznie ciemności – do pełnego światła słonecznego. Ma to duży wpływ na aktywność fotosyntetyczną tych organizmów, która charakteryzuje się dużą plastycznością, a zwłaszcza bardzo szybką absorpcją światła. Okrzemki mają jeden lub kilka chloroplastów, których budowa różni się od roślin wyższych. Tylakoidy zgrupowane są trójkami i przebiegają wzdłuż chloroplastu, nie są ze sobą mocno związane, nie występują grana, a PSI i PSII są równomiernie, wraz z antenami, rozmieszczone wzdłuż błon tylakoidowych. Pirenoid w komórce zawiera Rubisco i jest miejscem wiązania CO_2. Genom chloroplastowy wykazuje pochodzenie od glonów czerwonych. U okrzemek występuje chlorofil *a* i *c*, karotenoidy obecne są w dużych ilościach i pełnią ważna rolę w absorpcji światła. Białka LHC wiążące barwniki stanowią grupę tzw. *Fucoxanthin Chlorophyll Proteins* (FCP, nazywane LHCF).

Wykazują one duże podobieństwo u okrzemek i glonów brązowych. Najważniejszą rolę pełni fukoksantyna (FX), ponadto występuje: diadinoksantyna (DD) i diatoksantyna (DT). Karotenoidy przekazują energię wzbudzenia na Chl *a* i uczestniczą w rozpraszaniu energii w postaci ciepła. FX stabilizuje strukturę FCP. Veith i Büchel (2007) wykazali, że u *Phaeodactylum tricornutum* FCP działa jako antena przenosząca energię z Chl *c* i FX na PSI – jako antena specyficzna dla PSI. PSI-FCP jest monomerem podobnym w rozmiarach i kształcie do kompleksu u glonów zielonych.



Rycina 11.1. Schemat budowy chloroplastu okrzemek (lewa strona) i roślin wyższych (prawa strona)

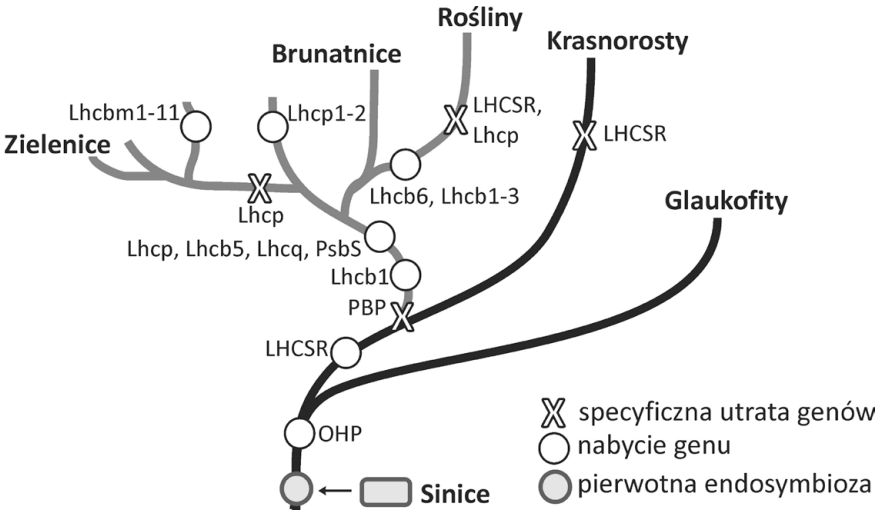
Źródło: opracowanie własne na podstawie: Grouneva i in. 2013.

Badania prezentują dane wskazujące na istnienie u okrzemek mechanizmu kondensacji CO_2 takiego, jak u roślin C4, umożliwiającego im wzrost w niskim stężeniu CO_2. Okrzemki powstały w erze mezozoicznej, czyli w okresie kiedy stężenie CO_2 w atmosferze było bardzo niskie. Wydaje się zatem, że fotosynteza C4 u okrzemek jest starsza niż u roślin lądowych (Reinfelder i in. 2000). U okrzemek nie stwierdzono jednak znacznej syntezy jabłczanu lub asparaginianu, wobec czego karboksylacja PEP może być związana z syntezą prekursorów aminokwasów.

1.4. Systemy antenowe LHC glonów zielonych i roślin wyższych

W procesie ewolucji, zmiany warunków życia roślin z wodnego na lądowy, miały wpływ na zmianę lokalizacji anten zewnętrznych fikobilisomalnych na anteny stanowiące integralną część membran (LHC) (Ryc. 11.2). Ważną przyczyną tych zmian była lepsza ochrona chloroplastów przed fotouszkodzeniem, związana z rozpraszaniem nadmiaru energii wzbudzenia jako niefotochemiczne wygaszanie

(ciepło), chroniące przed generowaniem ROS. Białka LHC zawierają trzy transbłonowe alfa helisy koordynujące chlorofil *a* i *b* (lub *c*) i karotenoidy w różnych ilościach. U roślin wyższych, sześć genów (*Lhca1-6*) koduje anteny PSI i sześć anteny PSII (*Lhcb1-6*). U glonu zielonego *Chlamydomonas reinhardtii*, dziewięć genów koduje anteny PSI (*Lhca1-9*), a jedenaście podjednostki LHCII (*Lhcbm1-6, Lhcbm8-11, Lhcb4-5*). Białka LHC zawierają wiele izoform. Anteny LHCI u roślin tworzą dwa heterodimery, Lhca1-Lhca4 i Lhca2-Lhca3, zlokalizowane na jednej stronie rdzenia PSI w postaci półksiężyca. Występują też w ilościach niestechiometrycznych białka Lhca5 i 6, będące homologami białek Lhca1-4.

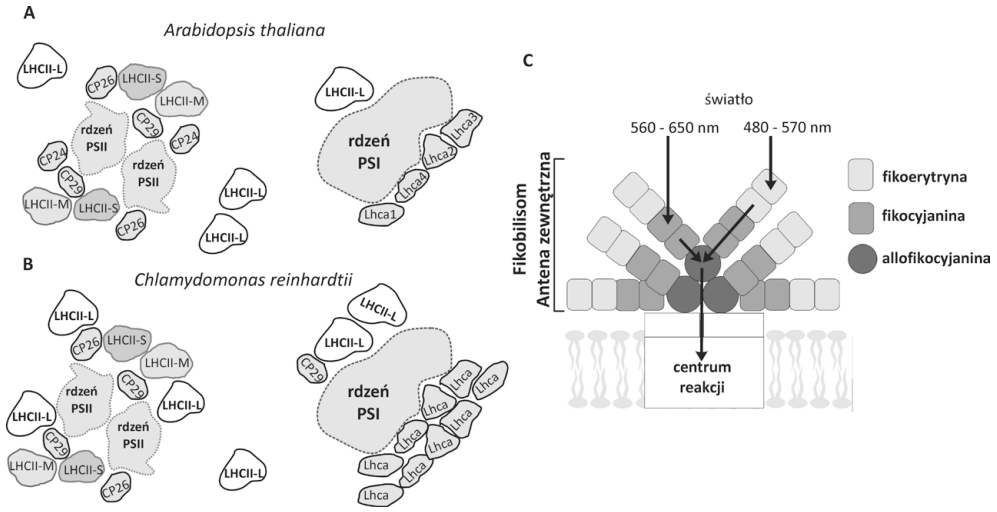


Rycina 11.2. Drzewo filogenetyczne głównych anten LHCs u fotosyntetycznych eukariontów

Objaśnienia: OHP, białka jednołańcuchowe; PBP, bikobiliny. Zaznaczono też utratę lub pojawienie się nowych genów

Źródło: opracowanie własne na podstawie: Ballotarii i in. 2012.

Anteny zewnętrzne PSII, LHCII u roślin wyższych i glonów zielonych koordynują chlorofil *a*, *b* i ksantofile. Anteny te tworzą trimery i formy monomeryczne. Trimery to białka Lhcb1, 2 i 3 i są one najbardziej powszechnymi antenami na Ziemi. Związane są z białkami rdzeniowymi poprzez monomeryczne anteny: CP24, CP26 i CP29 (Lhcb6, 5 i 4). Monomer LHCII wiąże 8 chlorofili *a*, 6 chlorofili *b* i 4 ksantofile (1 cząsteczkę neoksantyny, 2 luteiny i 1 wiolaksantyny). CP29 wiąże 13 chlorofili (9 Chl *a* i 4 Chl *b*) i 3 ksantofile (brak wiolaksantyny).



Rycina 11.3. Organizacja anten u: (A) roślin wyższych, (B) glonów zielonych oraz (C) krasnorostów

Źródło: opracowanie własne na podstawie: Wobbe i in. 2016.

Cząsteczki chlorofilu są w bliskim kontakcie z ksantofilem (luteina) dla wydajnego wygaszania chlorofilu tripletowego i tlenu singletowego (wiolaksantyna/neoksantyna). Organizacja anten zmienia się zależnie od środowiska i warunków stresowych, modyfikując aktywność fotosyntetyczną roślin. W niskim natężeniu światła anteny są większe, podczas gdy w wysokim – zmniejszają się. PSII wraz z antenami tworzy superkompleksy, różniące się ilością związanych LHCII, które mogą wiązać się z PSII: mocno (S), luźno (L) lub pośrednio (M) – zależnie od monomerycznych anten działających jako łączniki. Najbardziej powszechne są superkompleksy, w których dimer PSII łączy się z trimerami 2S i 2M (Ryc. 11.3). Kompozycja anten PSI natomiast nie zależy od czynników środowiskowych. Migracja anten LHCII pomiędzy PSII i PSI jest procesem, który pozwala na zrównoważenie dystrybucji energii wzbudzenia między fotoukładami (Allen i Forsberg 2001). Odgrywa on dużą rolę w dostosowaniu fotosyntezy w warunkach zmiennego oświetlenia (Bellafiore i in. 2005). W warunkach niskiego natężenia światła (lub działania światła niebieskiego), zachodzi proces *state transitions*, preferowane jest wzbudzenie fotoukładu II. Zachodzi wówczas fosforylacja w obrębie białek LHCII, zmiany konformacyjne białek powodują odłączenie anten od PSII i przyłączenie ich do PSI. Sprawia to, że dodatkowa energia z LHCII jest kierowana do fotoukładu I i zachodzi bardziej korzystne wykorzystanie energii w obu fotoukładach (Eberhard i in. 2008). Badania (Galka i in. 2012) pokazują, że anteny LHCII związane z PSI przenoszą energię bardziej wydajnie niż wówczas, kiedy są związane z PSII. Jednak-

że według Su i Shen (2005), fosforylacja LHCII i ruch anten ma na celu raczej przearanżowanie lokalizacji kompleksów w błonach tylakoidów w odpowiedzi na natężenie światła, niż dystrybucję energii wzbudzenia pomiędzy PSII i PSI.

1.5. Przystosowania długoterminowe do absorpcji światła

Zmieniające się warunki środowiska mają duży wpływ na fotosyntezę. Oprócz opisanych wcześniej odpowiedzi szybkich, zachodzących w ciągu od sekund do godzin po zadziałaniu czynnika i mających na celu dostosowanie funkcjonowania białek w aparacie fotosyntetycznym (Demmig-Adams i Adams 1992), przedłużające się (tygodnie, a nawet miesiące) działanie danego czynnika powoduje zmiany nie tylko w kompozycji białek na poziomie komórki, ale również w anatomii liści czy na poziomie całej rośliny (Weston i in. 2000). Aklimatyzacja roślin wyższych do niskich i wysokich natężeń światła objawia się różnicami w anatomii liści, a także inną zawartością i ułożeniem chloroplastów w komórkach. Liście roślin rosnących przy niskich natężeniach światła są zwykle cieńsze w porównaniu z roślinami tego samego gatunku rosnącymi przy dużym nasłonecznieniu (Anderson i in. 1988). Chloroplasty w komórkach miękiszowych występują liczniej, mają większe rozmiary i układ równoległy do powierzchni liścia, aby zapewnić najlepszą absorpcję światła. U roślin rosnących przy wysokich natężeniach światła, chloroplasty występują mniej licznie, mają mniejsze rozmiary, a w komórce ułożone są prostopadle do powierzchni liścia. Cechy anatomiczne liści ustalają się już na wczesnym etapie ich rozwoju (Oguchi i in. 2003), a rozmiar komórek liścia może również determinować zawartą w nich ilość chloroplastów (Pyke i Leech 1991).

Dostosowanie do różnych warunków świetlnych odbywa się też na poziomie chloroplastu i znajdujących się tam białek. Chloroplasty roślin rosnących przy wysokich natężeniach światła charakteryzują się mniejszą liczbą błon przypadających na granum i większym udziałem błon nieścieśnionych w porównaniu z chloroplastami roślin ze środowisk zacienionych (Anderson i in. 1988). Różnice obserwuje się również w obrębie liścia. Chloroplasty z górnej, eksponowanej na światło, części liścia różnią się strukturą (Terashima i in. 1986), a także zachodzącymi tam reakcjami fotosyntetycznymi od tych położonych głębiej i częściowo zacienionych (Evans i Vogelmann 2003). Przystosowanie na poziomie chloroplastów roślin z wysokich natężeń światła, w porównaniu z roślinami rosnącymi przy niskich natężeniach, prowadzi do zwiększenia ilości kompleksów fazy jasnej fotosyntezy: PSII, kompleksu cytochromowego b_6f i syntazy ATP, oraz do zmniejszenia ilości białek kompleksu antenowego LHCII, co z kolei pociąga za sobą zwiększanie się stosunku chlorofilu *a* do *b*. Światło wpływa również na zawartość enzymów biorą-

cych udział w cyklu Calvina-Bensona, zwiększa się szczególnie ilość Rubisco w chloroplastach roślin rosnących przy wysokich natężeniach światła (Bailey i in. 2001). Ponadto u roślin rosnących w warunkach zacienionych, obserwowano zwiększanie się stosunku PSII/PSI w porównaniu z roślinami ze stanowisk nasłonecznionych. Wiąże się to nie tylko z różnicą w natężeniu światła, ale również ze zmianami w spektrum promieniowania, gdyż do stanowisk zacienionych dociera światło z zakresu, który jest w większym stopniu absorbowany przez PSI (Chow i in. 1990). Zatem, przystosowanie roślin do słabego oświetlenia ma na celu zwiększenie efektywności wychwytywania fotonów, natomiast zmiany w aparacie fotosyntetycznym roślin rosnących przy wysokich natężeniach światła, prowadzą do wzrostu wydzielania O_2, zwiększenia transportu elektronów i asymilacji CO_2, a także zmniejszenia podatności na fotoinhibicję i wywołane światłem uszkodzenia (Savitch i in. 2000). Nie jest znany dokładny mechanizm procesu aklimatyzacji roślin do różnych warunków. Dużą rolę odgrywa stan redoks w chloroplastach, jednakże wydaje się, że nie jest on bezpośrednio związany z odpowiedzią długoterminową (Walters 2005). Wpływ na aklimatyzację ma również poziom metabolitów wewnątrzkomórkowych, stosunek ATP do ADP oraz stężenie cukrów (Walters 2005). Także fitochrom może odgrywać ważną rolę w aklimatyzacji, pełniąc prawdopodobnie funkcję pośrednią.

2. Podsumowanie

W procesie ewolucji powstały organizmy fotosyntetyczne mające zdolność wykorzystywania energii słonecznej do produkcji biomasy. Absorpcja światła przez organizmy oksygeniczne od sinic do roślin wyższych, adaptowanych do różnych warunków środowiskowych, jest kluczowa w produkcji bioenergii oraz tlenu. Szczególnie ważna w procesie przekształcania energii światła jest budowa chloroplastów, ich skład barwnikowy i budowa anten absorbujących światło.

Podziękowania

Badania finansowane są z grantu NCN Opus 2012/07/B/NZ3/02917.

Literatura

Allen J. F., Forsberg J. 2001. Molecular recognition in thylakoid structure and function. Trends Plant Sci. 6: 317–326.

Anderson J. M., Chow W. S., Goodchild D. J. 1988. Thylakoid membrane organization in sun/shade acclimation. Aust. J. Plant Physiol. 15: 11–26.

Bailey S., Walters R. G., Jansson S., Horton P. 2001. Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: the existence of separate low light and high light responses. Planta 213: 794–801.

Ballottari M., Girardon J., Dall'Osto L., Bassi R. 2012. Evolution and functional properties of Photosystem II light harvesting complexes in eukaryotes. Biochim. Biophys. Acta 1817: 143–157.

Bellafiore S., Barneche F., Peltier G., Rochaix J. D. 2005. State transitions and light adaptation require chloroplast thylakoid protein kinase STN7. Nature 433: 892–895.

Chow W. S., Melis A., Anderson J. M. 1990. Adjustment of photosystem stoichiometry in chloroplasts improve the quantum efficiency of photosynthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 7502–7506.

Demmig-Adams B., Adams III W. W. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 43: 599–626.

Eberhard S., Finazzi G., Wollman F. A. 2008. The dynamics of photosynthesis. Annu. Rev. Genet. 42: 463–515.

Evans J. R., Vogelmann T.C. 2003. Profiles of ^{14}C fixation through spinach leaves in relation to light absorption and photosynthetic capacity. Plant Cell Environ. 26: 547–560.

Galka P., Santabarbara S., Khuong T. T. H., Degand H., Morsomme P., Jennings R. C., Boekema E. J., Caffarria S. 2012. Functional analyses of the plant photosystem I-light-harvesting complex II supercomplex reveal that light-harvesting complex II loosely bound to photosystem II is a very efficient antenna for photosystem I in state II. Plant Cell 24: 2963–2978.

Grouneva I., Gollan P. J., Kangasjärvi S., Suorsa M., Tikkanen M., Aro E-M. 2013 Phylogenetic viewpoints on regulation of light harvesting and electron transport in eukaryotic photosynthetic organisms. Planta 237: 399–412.

Karpiński S., Escobar C., Karpińska B., Creissen G., Mullineaux P. M. 1997. Photosynthetic electron transport regulates the expression of cytosolic ascorbate peroxidase genes in *Arabidopsis* during excess light stress. Plant Cell 9: 627–640.

McColl R. 1998. Cyanobacterial phycobilisomes. J. Struct. Biol. 124: 311–34.

Oguchi R., Hikosaka K., Hirose T. 2003. Does the photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy? Plant Cell Environ. 26: 505–512.

Pfannschmidt T., Allen J.F., Oelmüller R. 2001. Principles of redox control in photosynthesis gene expression. Physiol. Plant. 112: 1–9.

Pyke K., Leech R. M. 1991. A rapid image analysis screening produce for identifying chloroplast number mutants in mesophyll cells of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Plant Physiol. 96: 1193–1195.

Reinfelder J. R., Kraepiel A. M. L., Morel F. M. 2000. Unicellular C4 photosynthesis in a marine diatom. Nature 407:996–999.

Savitch L.V., Massacci A., Gray G.R., Huner N.P.A. 2000. Acclimation to low temperature or high light mitigates sensitivity to photoinhibition: roles of the Calvin cycle and the Mehler reaction. Aust. J. Plant Physiol. 27: 253–264.

Su J.-H., Shen Y.-K. 2005. Influence of state-2 transition on proton motive force across the thylakoid membrane in spinach chloroplasts. Photosynth. Res. 85: 235–245.

Surpin M., Larkin R.M., Chory J. 2002. Signal transduction between the chloroplast and the nucleus. Plant Cell Supplement S327–S338.

Terashima I., Sakaguchi S., Hara N. 1986. Intra-leaf and intracellular gradients from the adaxial or abaxial side during their development. Plant Cell Physiol. 27: 1023–1031.

Walters R. G. 2005. Towards an understanding of photosynthetic acclimation. J. Exp. Bot. 56: 435–447.

Weston E., Thorogood K., Vinti G., Lopez-Juez E. 2000. Light quantity controls leaf-cell and chloroplast development in *Arabidopsis thaliana* wild type and blue-light-perception mutants. Planta 211: 807–815.

Wobbe L., Bassi B., Kruse O. 2016. Multi-level light capture control in plants and green algae. Trends Plant Sci. 21: 55–68.

Veith T., Büchel C. 2007. The monomeric Photosystem I-complex of the diatom *Phaeodactylum tricornutum* binds specific fucoxanthin chlorophyll proteins (FCPs) as light-harvesting complexes. Biochim. Biophys. Acta 1776: 1428–143.

12 Katabolizm poliamin jako odpowiedź roślin na warunki stresowe

Katarzyna **Ciąćka** / Paweł **Staszek** / Olga **Andrzejczak**
Urszula **Krasuska** / Karolina **Duranowska** / Agnieszka **Gniazdowska**

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Wydział Rolnictwa i Biologii, Katedra Fizjologii Roślin

ul. Nowoursynowska 159, 02–776 Warszawa
e-mail: katarzyna_ciacka@sggw.pl

Streszczenie: Poliaminy to biogenne aminy alifatyczne występujące powszechnie w komórkach roślin, pełniące funkcje regulatorów wzrostu i rozwoju. Do głównych poliamin należą: putrescyna, spermina i spermidyna. Powszechnie przyjmuje się, że w warunkach stresu, w roślinach dochodzi do zwiększonej syntezy poliamin, które z jednej strony działają jako cząsteczki o charakterze cytoprotekcyjnym, chroniąc struktury komórkowe, z drugiej strony – są źródłem wtórnych przekaźników informacji. Katabolizm poliamin oparty jest na aktywności oksydaz diaminowych i oksydaz poliaminowych. Degradacji poliamin towarzyszy wytwarzanie nadtlenku wodoru (H_2O_2). W pracy omówiono fizjologiczne funkcje poliamin ze szczególnym uwzględnieniem znaczenia katabolizmu poliamin w reakcji roślin na stresy.

Słowa kluczowe: czynniki biotyczne i abiotyczne, putrescyna, spermidyna, spermina, oksydazy aminowe.

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 172-184

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Poliaminy jako regulatory wzrostu i rozwoju roślin

Poliaminy (PA) to organiczne, niskocząsteczkowe związki, powszechnie występujące w komórkach roślin, zwierząt oraz mikroorganizmów. Historia ich poznania sięga 1674 roku, kiedy to Antoni van Leeuwenhoek, przy użyciu prymitywnego mikroskopu, zlokalizował w ludzkiej spermie nieznaną, krystaliczną substancję, która wiele lat później została nazwana sperminą (Spm) (Bachrach 2010). Pierwszą, zidentyfikowaną u roślin PA była putrescyna (Put), oznaczona w bieluniu dziędzierzawie (*Datura stramonium* L.) w 1911 r. (Bachrach 2010).

Najczęściej występującymi i najczęściej badanymi PA są: putrescyna (Put) – diamina, spermidyna (Spd) – triamina oraz spermina (Spm) – tetraamina. Nazwy Spd i Spm pochodzą od materiału, z którego zostały wyizolowane po raz pierwszy. Natomiast Put zyskała nazwę od angielskiego wyrażenia *putrefying flesh*, gdyż wiązano ją z zapachem gnijącego mięsa (Yamasaki, Cohen 2006).

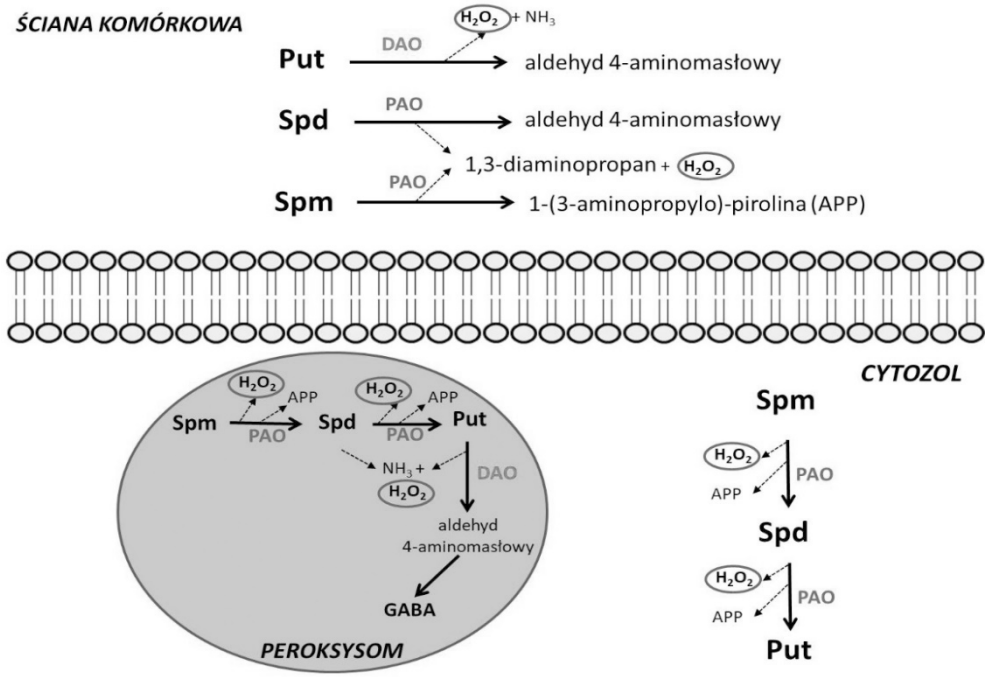
PA to związki zaliczane do biogennych amin alifatycznych, stanowiących w fizjologicznym pH polikationy azotowe (Sempruch 2008). Obecność dodatnio naładowanych grup aminowych ($-NH_2$) lub iminowych (-C=NR) warunkuje ich aktywność biologiczną. Dzięki nim związki te wykazują zdolność wiązania z anionowymi grupami fosforanowymi w fosfolipidach, kwasach nukleinowych i fosfoproteinach lub grupami karboksylowymi peptydów, kwaśnych białek i polisacharydów. Skutkiem powyższych oddziaływań elektrostatycznych jest stabilizacja/destabilizacja struktury, zmiana konformacji lub aktywności cząsteczek. Na poziomie komórkowym, aktywność biologiczna PA przejawia się w regulacji: replikacji DNA, transkrypcji RNA, syntezy i aktywności białek, kanałów jonowych, stabilizacji chromatyny, stabilizacji błon i ściany komórkowej, regulacji podziałów, różnicowania i elongacji komórek (Seiler, Raul 2005; Alcázar i in. 2006; Kusano i in. 2008). Ponadto PA mogą pełnić rolę antyoksydantów, zmiatając wolne rodniki bądź kontrolując aktywność enzymów systemu antyoksydacyjnego (Saha i in. 2015). Stąd też, PA w szerokim zakresie, uczestniczą w kontroli procesów wzrostu, rozwoju i metabolizmu roślin. Są regulatorami embriogenezy, kiełkowania nasion, rozwoju korzeni, kwitnienia, rozwoju i dojrzewania owoców oraz starzenia (Alcázar i in. 2010; Krasuska i in. 2012; Moschou i in. 2012; Tiburcio i in. 2014). Zwykle obserwuje się też wzrost zawartości PA w komórkach roślin poddanych działaniu różnych czynników stresowych, np. zasolenia, suszy, wysokiej lub niskiej temperatury, niedoboru składników mineralnych, zranienia, ataku patogenów (Alcázar i in. 2010; Pál i in. 2015; Saha i in. 2015). Nie ma jednak jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, czy wzrost zawartości PA w tych warunkach jest związany z ich ochronną rolą, czy też wprost przeciwnie – przyczynia się do pogłębienia stresu.

W komórkach, PA obecne są na terenie apoplastu, cytoplazmy, w mitochondriach, chloroplastach, wakuolach oraz jądrze komórkowym (Sempruch 2008). PA występują w trzech formach: wolnej, skoniugowanej i związanej. Pierwsze z nich stanowią najmniejszą część ogólnej puli PA (około 7–10%). Wolne PA zaobserwowano głównie w cytozolu oraz w jądrze komórkowym (Sempruch 2008). Natomiast około 90% zawartości PA to PA skoniugowane, kowalencyjnie połączone z kwasami fenylopropenowymi – pochodnymi kwasu cynamonowego, tj.: kwasem kumarowym, ferulowym, kawowym, sinapowym. Tworzenie skoniugowanych PA, powszechnie nazywanych amidami kwasu hydroksycynamonowego (HCAAs, ang. *hydroksycinnamic acid amides*), zachodzi dzięki aktywności transferaz (Martin-Tanguy 2001; Alcázar i in. 2010). Sugeruje się, że łączenie PA ze związkami drobnocząsteczkowymi, może stanowić mechanizm zabezpieczający komórkę przed ich nadmiarem (Antognoni, Bagni 2008). Dodatkowo PA mogą również łączyć się z makrocząsteczkami, np. z kwasami nukleinowymi, hemicelulozą lub białkami tworząc formy związane. Potranslacyjne, kowalencyjne przyłączanie PA do białek może zachodzić w wyniku aktywności transglutaminaz (Martin-Tanguy 2001).

W komórkach roślinnych PA występują w stężeniach znacznie wyższych niż klasyczne hormony (Kubiś 2006). Związki te wykazują aktywności w stężeniu milimolarnym, co przyczyniało się do zaklasyfikowania ich do grupy regulatorów wzrostu i rozwoju roślin (Sobieszczuk-Nowicka, Legocka 2007). Wewnątrzkomórkowe stężenie PA regulowane jest poprzez ich biosyntezę, pobieranie i transport, wiązanie z innymi związkami nisko- i wysokocząsteczkowymi oraz degradację.

2. Katabolizm poliamin

W komórkach roślinnych, katabolizm PA zachodzi w wyniku aktywności oksydaz aminowych (AO), katalizujących ich utlenianie. Wyróżniono dwie klasy AO: oksydazy diaminowe (DAO, EC 1.4.3.6), inaczej zwane też oksydazami aminowymi zawierającymi miedź (CuAO), oraz oksydazy poliaminowe, zależne od dinukleotydu flawinoadeninowego (FAD) (PAO, EC 1.5.3.11) (Angelini i in. 2010; Tiburcio i in. 2014). DAO i PAO różnią się preferencją substratową, mechanizmem oksydacji oraz lokalizacją subkomórkową. Zarówno DAO jak i PAO to enzymy powszechnie występujące w apoplaście, ponadto PAO zlokalizowano w cytozolu i peroksysomach (Cerveli i in. 2004; Kamada-Nobusada i in. 2008; Moshou i in. 2008b, c) (Ryc. 12.1).



Rycina 12.1. Degradacja PA w komórkach roślinnych

Źródło: opracowanie na podstawie: Tiburcio i in. 2014.

DAO jest homodimerem posiadającym grupy miedziowe w każdej podjednostce (Angelini i in. 2010). Enzym ten preferencyjnie uczestniczy w degradacji Put i kadaweryny (Kad) (Cona i in. 2006) i charakteryzuje się znacznie niższym powinowactwem do Spd i Spm. Aktywność DAO grochu (*Pisum sativum* L.) (PSAO; Tipping, McPherson 1995) w obecności: Put przyjmuje wartość maksymalną, Spd – trzykrotnie niższą, natomiast w przypadku Spm – aktywność enzymu jest znikoma (stanowi zaledwie 0,3% wartości oznaczanej dla Put). U soczewicy (*Lens*) najwyższą aktywność DAO obserwowano, gdy substratem była Put, gdy zastosowano Spd – ulegała ona obniżeniu o 60%, natomiast w obecności Spm – aktywność DAO była 5-krotnie niższa w porównaniu do aktywności notowanej po podaniu Put (Cogoni i in. 1991). Oksydacja Put w roślinach prowadzi do powstania amoniaku i aldehydu 4-aminomasłowego, który ulega spontanicznej cyklizacji do Λ^1-piroliny, podlegającej przekształceniu do kwasu γ-aminomasłowego (GABA) (Martin-Tonguy 2001; Cona i in. 2006), działającego jako osmoregulator lub cząsteczka sygnałowa (Pál i in. 2015). DAO występują w dużych ilościach szczególnie u roślin z rodziny Fabaceae i zlokalizowane są przede wszystkim w ścianie komórkowej oraz peroksysomach. U rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) występuje 10 genów

kodujących DAO. Cztery z nich zostały w pełni scharakteryzowane (Møller, McPherson 1998; Planas-Portell i in. 2013). U tytoniu (*Nicotiana tabaccum* L.) zidentyfikowano dwa geny kodujące DAO (Katoh i in. 2007).

PAO zaliczane są do monomerycznych enzymów o masie cząsteczkowej ok. 53–60 kDa (Moschou i in. 2012), katalizujących reakcję utleniania Spd oraz Spm. PAO w przeciwieństwie do DAO w centrum aktywnym wiążą niekowalencyjnie FAD (Angelini i in. 2010). PAO występują w dużych ilościach w komórkach roślin należących do rodziny Poaceae. U kukurydzy (*Zea mays* L.) zidentyfikowano trzy geny kodujące PAO występujące w apoplaście (Tiburcio i in. 2014), natomiast w jęczmieniu (*Hordeum vulgare* L.) występują dwie izoformy PAO o różnej lokalizacji: HvPAO1 – apoplastowa i HvPAO2 – wakuolarna (Tiburcio i in. 2014). Optymalne pH aktywności PAO różni się w zależności od rośliny, jednak w większości przypadków, zarówno dla Spd, jak i Spm wynosi około 5,5–6,8 (Federico, Angelini 1991), co wskazuje na lokalizację tych białek w ścianie komórkowej.

Wyróżniono dwie rodziny PAO. Pierwsza z nich katalizuje degradację PA, zwaną *terminal catabolism*. W wyniku tej reakcji, Spd, na drodze deaminacji, przekształcana jest do aldehydu 4-aminomasłowego i 1,3-diaminopropanu (następnie przekształcanego do β-alaniny), który stanowi również produkt degradacji Spm. Dodatkowo Spm ulega przemianie do 1-(3-aminopropylo)-piroliny (APP) (Ryc. 12.1), która następnie wykorzystywana jest do syntezy 1,5-diazobicyklononanu (Cona i in. 2006). Ten rodzaj utleniania Spd i Spm przeprowadzany jest np. przez CsPAO4, zlokalizowaną w apoplaście u pomarańczy chińskiej (*Citrus sinesis* L.) (Wang, Liu 2016) oraz przez ZmPAO i OsPAO7 obecnych odpowiednio u kukurydzy i ryżu (*Oryza sativa* L.) (Liu i in. 2015). Drugi typ PAO katalizuje reakcję utleniania PA zwaną *back conversion* (wsteczna degradacja), stanowiącą przeciwieństwo syntezy PA. W reakcji tej, Spm przekształcana jest do Spd, natomiast w wyniku utleniania Spd powstaje Put. Najlepiej scharakteryzowanymi PAO zaangażowanymi w zwrotną przemianę PA są te występujące u rzodkiewnika. Zidentyfikowano 5 genów (*AtPAO1–AtPAO5*) kodujących wspomniane wyżej PAO. *AtPAO1* koduje indukowalną PAO (Tavladoraki i in. 2006), natomiast *AtPAO5* koduje enzym konstytutywny (Ahou i in. 2014), przy czym oba białka obecne są w cytoplazmie. Z kolei *AtPAO2*, *3*, *4* kodują białka peroksysomalne (Kamada-Nobusada i in. 2008; Moschou i in. 2008c). U rzodkiewnika dwa geny kodujące peroksysomalne PAO ulegają koekspresji w komórkach szparkowych (konstytutywna ekspresja dotyczy *AtPAO3*, natomiast *AtPAO2* podlega ekspresji w odpowiedzi na kwas abscysynowy – ABA) (Fincato i in. 2012). W wierzchołku wzrostu korzenia *AtPAO2* podlega ekspresji tylko w centrum spoczynkowym i komórkach inicjalnych kolumelli, *AtPAO3* – w komórkach kolumelli, *AtPAO1* – w komórkach strefy przejściowej,

natomiast *AtPAO5* podlega ekspresji w tkankach przewodzących korzenia i w hipokotylu (Fincato i in. 2012). Dodatkowo wykazano, że produkty powyższych genów różnią się preferencją w stosunku do Spd i Spm (Moschou i in. 2008b, c; Ficanto i in. 2011).

„Wsteczną" degradację PA potwierdzono również u ryżu i pomarańczy chińskiej (Liu i in. 2014; Wang, Liu 2015). Występowanie tego procesu zakłada się także u kukurydzy i tytoniu, z uwagi na obecność sekwencji białkowych homologicznych do AtPAO (Fincato i in. 2011).

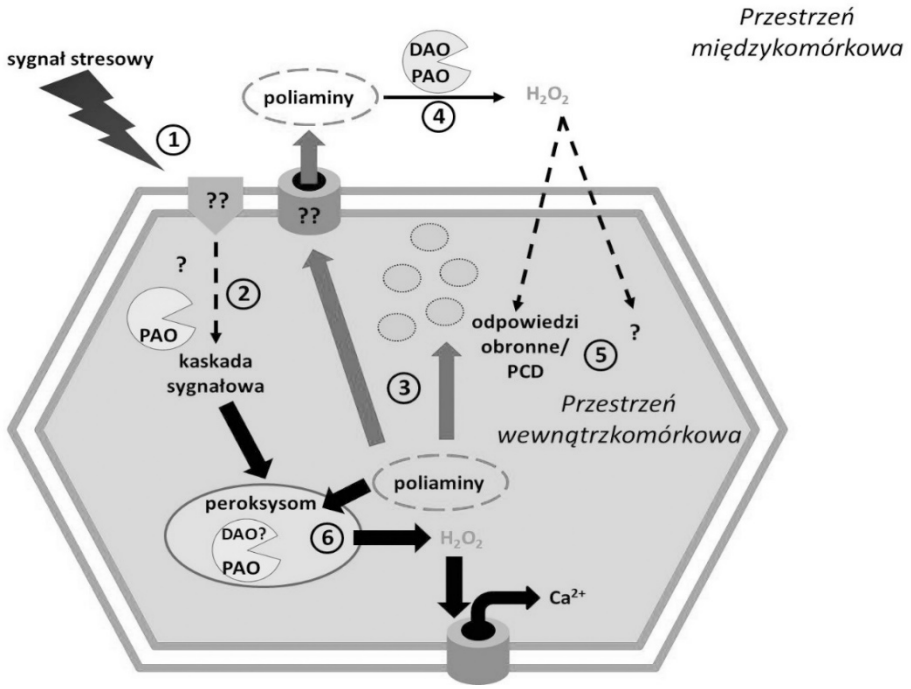
Reakcje katalizowane zarówno przez DAO, jak i PAO mają charakter oksydacyjny, wymagają obecności O_2 i H_2O, a ich produktem jest H_2O_2 (Angelini i in. 2010), stąd też, uważane są za jedne z głównych źródeł ROS w komórce.

3. Degradacja poliamin a reakcja roślin na stres

Regulacja stężenia PA, w wyniku ich degradacji podczas stresów biotycznych i abiotycznych, została potwierdzona w licznych doniesieniach. Katabolizm PA traktowany jest jako źródło H_2O_2 i narzędzie aktywowane w reakcji roślin na stresy (Cona i in. 2006) (Ryc. 12.2). Dotyczy to głównie oksydaz aminowych zlokalizowanych w apoplaście i zwiększonego transportu PA na teren ściany komórkowej (Ryc. 12.2).

Moschou i inni (2008a) wykazali, że w warunkach stresu solnego, Spd jest transportowana do apoplastu, gdzie podlega degradacji przy udziale PAO z jednoczesnym wydzieleniem H_2O_2. Wysoka aktywność PAO i tym samym nagromadzanie H_2O_2 sprzyjało indukcji programowanej śmierci komórkowej (PCD), jednocześnie średnia aktywność PAO i tym samym tylko nieco podwyższone stężenie H_2O_2 było sygnałem aktywującym odpowiedź rośliny na stres (Ryc. 12.2). Niskie stężenie PA (Put, Spd i Kad), któremu towarzyszył wzrost aktywności DAO, obserwowano w korzeniach soi (*Glycine max* (L.) Merr.), traktowanych NaCl (Xing i in. 2007). Jednocześnie autorzy wykazali wzrost stężenia GABA postępujący wraz ze wzrostem stopnia zasolenia. Z kolei Groß i współpracownicy (2017), prowadząc doświadczenia dotyczące odpowiedzi rzodkiewnika na zasolenie, odnotowali wpływ CuAO8 na aktywność arginazy. U mutanta typu „knock-out" genu kodującego CuAO8, obserwowanemu wzrostowi aktywności arginazy towarzyszyło obniżenie stężenia argininy (Arg). W związku z powyższym, autorzy pracy wnioskują, że sugerowane wcześniej tworzenie tlenku azotu (NO) z udziałem CuAO (Wimalasekera i in. 2011), może opierać się na regulacji dostępności Arg stanowiącej substrat

w reakcji tworzenia NO zależnej od aktywności syntazy NO-podobnej (NOS-podobnej).



Rycina 12.2. Model opisujący rolę oksydaz aminowych w reakcji roślin na stresy

Objaśnienia: percepcja sygnału – nieznany receptor; (2) transdukcja sygnału; (3) wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia PA i transport PA do apoplastu; (4) oksydacja PA katalizowana przez DAO/PAO połączona z uwalnianiem H_2O_2; (5) kaskada sygnałowa zależna od H_2O_2; (6) oksydacja PA w peroksysomach → uwalnianie H_2O_2 → aktywacja kanałów Ca^{2+}.

Źródło: opracowanie na podstawie Moschou i in. 2012.

Podczas stresu suszy, ABA odgrywa kluczową rolę jako regulator ruchów aparatów szparkowych, kontrolując tym samym utratę wody. Obserwowano indukcję ekspresji genów kodujących PAO (*AtPAO2*) oraz DAO (*AtCuAO1*) pod wpływem działania ABA (Wimalasekera i in. 2011; Fincato i in. 2012). An i współpracownicy (2008) zaproponowali model regulacji aparatów szparkowych w odpowiedzi na ABA. Podanie ABA 4-tygodniowym siewkom bobu (*Vicia faba* L.), stymulowało aktywność DAO oraz prowadziło do wzrostu produkcji H_2O_2 aktywującego kanały Ca^{2+}, czego konsekwencją było zamykanie aparatów szparkowych. Podobną sekwencję zdarzeń zaobserwowano w ziarnach pyłku rzodkiewnika – wzrost H_2O_2 w wyniku oksydacji PA (Spd) w peroksysomach prowadził do hiperpolaryzacji

błony komórkowej oraz zwiększenia wewnątrzkomórkowej puli Ca^{2+} (Wu i in. 2010) (Ryc. 12.2).

Wzrost ekspresji PAO u rzodkiewnika obserwowano również w warunkach stresu mechanicznego (Moschou i in. 2008b). Tisi i inni (2008) wykazali wzrost aktywności PAO u kukurydzy w przypadku ataku patogenu, w szczególności wirusa mozaiki tytoniowej (TMV). Yoda i inni (2003, 2006) donosili o zmianie aktywności PAO w kulturze komórkowej tytoniu, w odpowiedzi na elicytory grzybowe. Indukcję PCD, w odpowiedzi na TMV lub kryptogeinę, wiązano ze wzrostem produkcji H_2O_2, będącej wynikiem wzmożonego katabolizmu PA. Substratem do produkcji H_2O_2 była głównie Spd, gdyż w warunkach indukcji reakcji nadwrażliwości (HR) dochodziło do akumulacji Spd, a nie Spm w apoplaście (Ryc. 12.2). Wzrost aktywności PAO w apoplaście obserwowano także u tytoniu po ataku nekrotroficznego grzyba *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) i zakażeniu *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder) (Marina i in. 2008). Natomiast u mutantów roślin tego gatunku z nadekspresją genów kodujących PAO odnotowano wzrost stężenia H_2O_2, któremu towarzyszył wzrost tolerancji na *Pseudomonas syringae* (Berk.) i *Phytophtora parasitica* (Dastur) (Moschou i in. 2009). Wyniki badań Rea i współpracowników (2002) dotyczące zranienia i porażenia siewek ciecierzycy pospolitej (*Cicer arietinum* L.) przez *Ascochyta rabiei* (Pass.) wskazują, że tworzenie H_2O_2 na drodze zależnej od apoplastowej DAO, jest niezbędne do wzmocnienia ścian komórkowych, co mogłoby zachodzić w wyniku ich suberynizacji (Ryc. 12.2).

Sujkowska-Rybkowska i Borucki (2014) wykazali, że traktowanie 50 μM roztworem $AlCl_3$ 2-tygodniowych roślin grochu, inokulowanych szczepem bakterii *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, prowadzi do wzrostu aktywność DAO obecnej w apoplaście komórek brodawek korzeniowych. Konsekwencją powyższego był wzrost stężenia H_2O_2 i zaburzenia rozwoju brodawek. Odwrotna sytuacja obserwowana była w przypadku pszenicy (*Triticum aestivum* L.) rosnącej w obecności Cd^{2+} i Cu^{2+}. Traktowanie roślin roztworami metali prowadziło do obniżenia aktywności DAO w liściach pszenicy, co było połączone ze wzrostem stężenia Put (Groppa i in. 2003).

Wzrost aktywności PAO obserwowano także w korzeniach siewek pomidora (*Solanum lycopersicum* L.), których wzrost elongacyjny był hamowany przez podanie niebiałkowego aminokwasu – kanawaniny (Krasuska i in. 2016). Podobną zależność zanotowano w przypadku ekspozycji siewek pomidora na inny niebiałkowy aminokwas – *meta*-tyrozynę, uznawaną za silną fitotoksynę (dane nieopublikowane). Badania transkryptomiczne wykazały jednak obniżenie ekspresji genów kodujących PAO1 i PAO2 w korzeniach siewek pomidora, których wzrost był całkowicie zahamowany przez kanawaninę lub *meta*-tyrozynę, szczególnie po dłuż-

szym czasie działania czynnika stresowego (72 h) (dane niepublikowane). Krótki czas ekspozycji (24 h) na niebiałkowy aminokwas, podany w niższym stężeniu, powodował krótkotrwały wzrost ekspresji *PAO2* (dane niepublikowane).

W roślinach, w warunkach stresowych, powszechnie obserwuje się zmiany zawartości PA. Akumulacja Put jest charakterystyczna dla deficytu wody, chłodu lub niedoboru składników mineralnych, z kolei odporności na zasolenie sprzyja wysoka zawartość Spm lub Spd (Kubiś 2006). Nagromadzenie PA może przyczyniać się do złagodzenia następstw działania czynników stresowych, poprzez np. stabilizację struktur białek lub kwasów nukleinowych. Wydaje się natomiast, że zmiany metabolizmu PA w reakcji na niekorzystne warunki środowiska, związane są głównie z generowaniem H_2O_2 – jako cząsteczki sygnałowej, uruchamiającej kaskadę zdarzeń prowadzącą do powstania wielopłaszczyznowej odpowiedzi.

Podziękowania

Praca finansowana w ramach projektu Narodowego Centrum Nauki, 2014/13/B/NZ9/02074.

Literatura

Ahou A., Martignago D., Alabdallah O., Tavazza R., Stano P., Macone A., Pivato M., Masi A., Rambla J. L., Vera-Sirera F., Angelini R., Federico R., Tavladoraki P. 2014. A plant spermine oxidase/dehydrogenase regulated by the proteasome and polyamines. J. Exp. Bot., 65: 1585–1603.

Alcázar R., Altabella T., Marco F., Bortolotti C., Reymond M., Koncz C., Carrasco P., Tiburcio A. F. 2010. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. Planta, 231: 1237–1249.

Alcázar R., Marco F., Cuevas J. C., Patron M., Ferrando A., Carrasco P., Tiburcio A. F., Altabella T. 2006. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. Biotechnol. Lett., 28: 1867–1876.

An Z. F., Wen J., Liu Y. L., Zhang W. H. 2008. Hydrogen peroxide generated by copper amine oxidase is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. J. Exp. Bot., 59: 815–825.

Angelini R., Cona A., Federico R., Fincato P., Tavladoraki P., Tisi A. 2010. Plant amine oxidases "on the move": an update. Plant Physiol. Biochem., 48: 560–564.

Antognoni F., Bagni N. 2008. Bis(guanylhydrazones) negatively affect in vitro germination of kiwifruit pollen and alter the endogenous polyamine pool. Plant Biol., 10: 334–341.

Bachrach U. 2010. The early history of polyamine research. Plant Physiol. Biochem., 48: 490–495.

Cervelli M., Di Caro O., Di Penta A., Angelini R., Federico R., Vitale A., Mariottini P. 2004. A novel C-terminal sequence from barley polyamine oxidase is a vacuolar sorting signal. Plant J., 40: 410–418.

Cogoni A., Padiglia A., Medda R., Segni P., Floris G. 1991. Oxidation of spermine by an amine oxidase from lentil seedlings. Plant Physiol., 95: 477–479.

Cona A., Rea G., Angelini R., Federico R., Tavladoraki P. 2006. Functions of amine oxidases in plant development and defence. Trends Plant Sci., 11: 80–88.

Federico R., Angelini R. 1991. Polyamine catabolism in plants. [W:] Slocum R. D., Flores H. E. (red.), Biochemistry and physiology of polyamines in plants. CRC Press, Boca Raton, Florida, 41–56.

Fincato P., Moschou P. N., Ahou A., Angelini R., Roubelakis-Angelakis K. A., Federico R., Tavladoraki P. 2012. The members of *Arabidopsis thaliana* PAO gene family exhibit distinct tissue- and organ-specific expression pattern during seedling growth and flower development. Amino Acids, 42: 831–841.

Fincato P., Moschou P. N., Spedaletti V., Tavazza R., Angelini R., Federico R., Roubelakis-Angelakis K. A., Tavladoraki P. 2011. Functional diversity inside the Arabidopsis polyamine oxidase gene family. J. Exp. Bot., 62: 1155–1168.

Groppa M. D., Benavides M. P., Tomaro M. L. 2003. Polyamine metabolism in sunflower and wheat leaf discs under cadmium or copper stress. Plant Sci., 164: 293–299.

Groß F., Rudolf E. E., Thiele B., Durner J., Astier J. 2017. Copper amine oxidase 8 regulates arginine-dependent nitric oxide production in *Arabidopsis thaliana*. J. Exp. Bot., 68: 2149–2162.

Kamada-Nobusada T., Hayashi M., Fukazawa M., Sakakibara H., Nishimura M. 2008. A putative peroxisomal polyamine oxidase, AtPAO4, is involved in polyamine catabolism in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiol., 49: 1272–1282.

Katoh A., Shoji T., Hashimoto T. 2007. Molecular cloning of *N*-methylputrescine oxidase from tobacco. Plant Cell Physiol., 48: 550–554.

Krasuska U., Andrzejczak O., Staszek P., Borucki W., Gniazdowska A. 2016. Toxicity of canavanine in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) roots is due to alterations in RNS, ROS and auxin levels. Plant Physiol. Biochem., 103: 84–95.

Krasuska U., Budnicka K., Bogatek R., Gniazdowska A. 2012. Poliaminy w regulacji spoczynku i kiełkowania nasion. Postępy Biol. Kom., 39: 395–414.

Kubiś J. 2006. Poliaminy i ich udział w reakcji roślin na warunki stresowe środowiska. Kosmos, 55: 209–215.

Kusano T., Berberich T., Tateda C., Takahashi Y. 2008. Polyamines: essential factors for growth and survival. Planta, 228: 367–381.

Liu J. H., Wang W., Wu H., Gong X., Moriguchi T. 2015. Polyamines function in stress tolerance: from synthesis to regulation. Front. Plant Sci., 6: 827.

Liu T., Kim D. W., Niitsu M., Berberich T., Kusano T. 2014. *Oryza sativa* polyamine oxidase 1 back-converts tetraamines, spermine and thermospermine, to spermidine. Plant Cell Rep., 33: 143–151.

Marina M., Maiale S. J., Rossi F. R., Romero M. F., Rivas E. I., Gárriz A., Ruiz O. A., Pieckenstain F. L. 2008. Apoplastic polyamine oxidation plays different roles in local responses of tobacco to infection by the necrotrophic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* and the biotrophic bacterium *Pseudomonas viridiflava*. Plant Physiol., 147: 2164–2178.

Martin-Tanguy J. 2001. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). Plant Growth Regul., 34: 135–148.

Møller S. G., McPherson M. J. 1998. Developmental expression and biochemical analysis of the Arabidopsis atao1 gene encoding an H_2O_2-generating diamine oxidase. Plant J., 13: 781–791.

Moschou P. N., Paschalidis K. A., Delis I. D., Andriopoulou A. H., Lagiotis G. D., Yakoumakis D. I., Roubelakis-Angelakis K. A. 2008a. Spermidine exodus and oxidation in the apoplast induced by abiotic stress is responsible for H_2O_2 signatures that direct tolerance responses in tobacco. Plant Cell, 20: 1708–1724.

Moschou P. N., Paschalidis K. A., Roubelakis-Angelakis K. A. 2008b. Plant polyamine catabolism. Plant Signal. Behav., 3: 1061–1066.

Moschou P. N., Sanmartin M., Andriopoulou A. H., Rojo E., Sanchez-Serrano J. J., Roubelakis-Angelakis K. A. 2008c. Bridging the gap between plant and mammalian polyamine catabolism: a novel peroxisomal polyamine oxidase responsible for a full back-conversion pathway in Arabidopsis. Plant Physiol., 47: 1845–1857.

Moschou P. N., Sarris P. F., Skandalis N., Andriopoulou A. H., Paschalidis K. A., Panopoulos N. J., Roubelakis-Angelakis K. A. 2009. Engineered polyamine catabolism preinduces tolerance of tobacco to bacteria and comycetes. Plant Physiol., 149: 1970–1981.

Moschou P. N., Wu J., Cona A., Tavladoraki P., Angelini R., Roubelakis-Angelakis K. A. 2012. The polyamines and their catabolic products are significant players in the turnover of nitrogenous molecules in plants. J. Exp. Bot., 63: 5003–5015.

Pál M., Szalai G., Janda T. 2015. Speculation: polyamines are important in abiotic stress signalling. Plant Sci., 237: 16–23.

Planas-Portell J., Gallart M., Tiburcio A. F., Altabella T. 2013. Copper-containing amine oxidases contribute to terminal polyamine oxidation in peroxisomes and apoplast of *Arabidopsis thaliana*. BMC Plant Biol., 13: 109.

Rea G., Metoui O., Infantino A., Federico R., Angelini R. 2002.Copper amine oxidase expression in defense responses to wounding and *Ascochyta rabiei* invasion. Plant Physiol., 128: 865–875.

Saha J., Brauer E. K., Sengupta A., Popescu S. C., Gupta K., Gupta B. 2015. Polyamines as redox homeostasis regulators during salt stress in plants. Front. Environ. Sci., doi.org/10.3389/fenvs.2015.00021.

Seiler N., Raul F. 2005. Polyamines and apoptosis. J. Cell Mol. Med., 9: 623–642.

Sempruch C. 2008. Znaczenie amin alifatycznych i aromatycznych w reakcjach obronnych roślin przeciwko patogenom. Postępy Nauk Rol., 3: 17–33.

Sobieszczuk-Nowicka E., Legocka J. 2007. Nowe podejście w badaniach nad rolą poliamin w komórce roślinnej. Postępy Biol. Kom., 34: 527–540.

Sujkowska-Rybkowska M., Borucki W. 2014. Localization of hydrogen peroxide accumulation and diamine oxidase activity in pea root nodules under aluminum stress. Micron, 57: 13–22.

Tavladoraki P., Rossi M. N., Saccuti G., Perez-Amador M. A., Polticelli F., Angelini R., Federico R. 2006. Heterologous expression and biochemical characterization of a polyamine oxidase from Arabidopsis involved in polyamine back conversion. Plant Physiol., 149: 1519–1532.

Tiburcio A. F., Altabella T., Bitrián M., Alcázar R. 2014. The roles of polyamines during the lifespan of plants: from development to stress. Planta, 240: 1–18.

Tipping A. J., McPherson M. J. 1995. Cloning and molecular analysis of the pea seedling copper amine oxidase. J. Biol. Chem., 270: 16939–16946.

Tisi A., Angelini R., Cona A. 2008. Wound healing in plants: cooperation of copper amine oxidase and flavin-containing polyamine oxidase. Plant Signal. Behav., 3: 204–206.

Wang W., Liu J. H. 2015. Genome-wide identification and expression analysis of the polyamine oxidase gene family in sweet orange (*Citrus sinensis*). Gene, 555: 421–429.

Wang W., Liu J. H. 2016. *CsPAO4* of *Citrus sinensis* functions in polyamine terminal catabolism and inhibits plant growth under salt stress. Sci. Rep., 6: 31384.

Wimalasekera R., Villar C., Begum T., Scherer G. F. 2011. *COPPER AMINE OXIDASE1* (*CuAO1*) of *Arabidopsis thaliana* contributes to abscisic acid- and polyamine-induced nitric oxide biosynthesis and abscisic acid signal transduction. Mol. Plant., 4: 663–678.

Wu J., Shang Z., Wu J., Jiang X., Moschou P. N., Sun W., Roubelakis-Angelakis K. A., Zhang S. 2010. Spermidine oxidase-derived H_2O_2 regulates pollen plasma membrane hyperpolarization-activated Ca^{2+}-permeable channels and pollen tube growth. Plant J., 63: 1042–1053.

Xing S. G., Jun Y. B., Hau Z. W., Liang L. Y. 2007. Higher accumulation of gamma-aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. roots. Plant Physiol. Biochem., 45: 560–566.

Yamasaki H., Cohen M. F. 2006. NO signal at the crossroads: polyamine-induced nitric oxide synthesis in plants. Trends Plant Sci., 11: 522–524.

Yoda H., Hiroi Y., Sano H. 2006. Polyamine oxidase is one of the key elements for oxidative burst to induce programmed cell death in tobacco cultured cells. Plant Physiol., 142: 193–206.

Yoda H., Yamaguchi Y., Sano H. 2003. Induction of hypersensitive cell death by hydrogen peroxide produced through polyamine degradation in tobacco plants. Plant Physiol., 132: 1973–1981.

13 Aktywność biologiczna roślinnych poliamin

Barbara **Bokina** / Andrzej **Bajguz**
Alicja **Piotrowska-Niczyporuk**

Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny
Instytut Biologii, Zakład Biochemii Roślin i Toksykologii

ul. K. Ciołkowskiego 1J, 15–245 Białystok
e-mail: abajguz@uwb.edu.pl

Streszczenie: Poliaminy, jako aminy biogenne, są związkami organicznymi o małej masie cząsteczkowej. Powstają w organizmach pro- i eukariotycznych w wyniku dekarboksylacji aminokwasów, głównie zasadowych: ornityny i lizyny. Komórki prokariotyczne posiadają znacznie większy poziom putrescyny niż spermidyny, nie zawierają sperminy. Natomiast eukariota zawierają sperminę i spermidynę oraz niewielkie ilości putrescyny. U roślin występują głównie: putrescyna, spermidyna, spermina i agmatyna, które są zlokalizowane w ścianie komórkowej, mitochondriach, chloroplastach, wakuolach, jądrze komórkowym oraz jąderku. Poliaminy występują w formie wolnej lub związanej z kwasami organicznymi. Są to związki niezbędne do prawidłowego utrzymania żywotności komórek, a także do zapewnienia właściwego przebiegu procesów metabolicznych. Wchodzą w interakcje z makrocząsteczkami: DNA, RNA, fosfolipidami oraz niektórymi białkami wpływając np. na proces replikacji, transkrypcji, translacji oraz przepuszczalność błon. Poliaminy są zaliczane do regulatorów wzrostu roślin, ponieważ biorą udział w: regulacji podziałów komórkowych, embriogenezie, kiełkowaniu nasion, ukorzenianiu, kwitnieniu, wzroście łagiewki pyłkowej. Przeciwdziałają starzeniu się komórek, a także aktywnie uczestniczą w adaptacji roślin do różnorodnych czynników stresowych. Poziom poliamin znacznie wzrasta, gdy rośliny są narażone na działanie rozmaitych stresów biotycznych i abiotycznych, takich jak: stres solny, osmotyczny, nadmiar światła bądź ciemność, stres termiczny, kwasowy, alkaliczny, promieniowanie UV-B, działanie metali ciężkich, uszkodzenia mechaniczne, niedobór wody, czy niedobór tlenu.

Słowa kluczowe: metabolizm, putrescyna, spermidyna, spermina, stres środowiskowy.

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 185-196

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

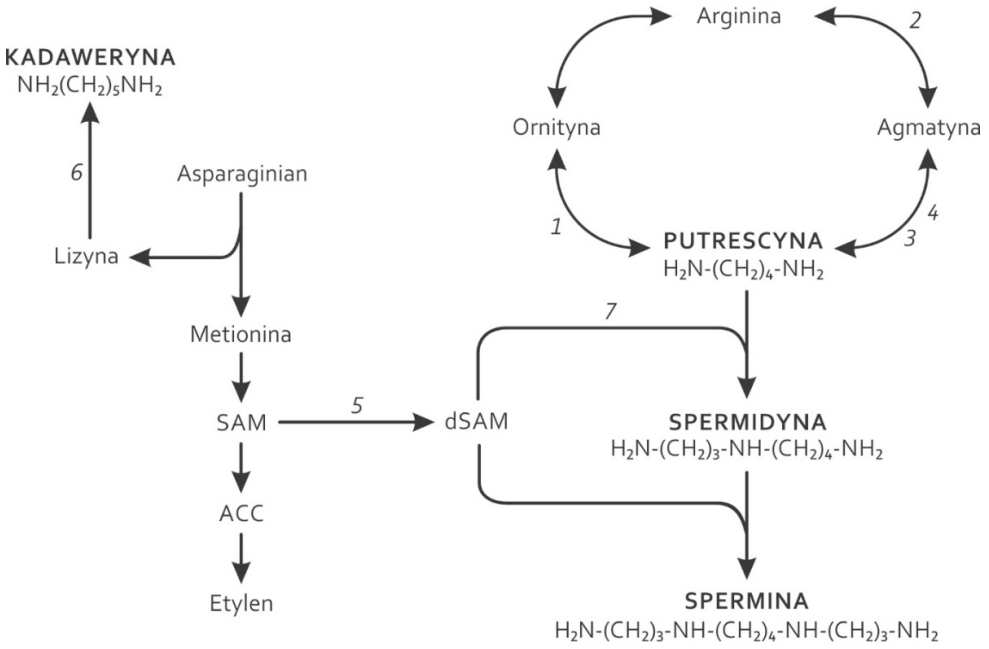
1. Wstęp

Poliaminy są polikationowymi związkami alifatycznymi, występującymi we wszystkich roślinach, zwierzętach i mikroorganizmach. Posiadają dwie lub więcej grup aminowych, co decyduje o ich zdolności wiązania z innymi związkami organicznymi. Najczęściej w roślinach wyższych występują: diamina – putrescyna, triamina – spermidyna, tetraamina – spermina. Oprócz wyżej wymienionych, do najczęściej spotykanych poliamin alifatycznych należą: diaminopropan, kadaweryna, agmatyna, homoagmatyna, urokaina, norspermina, norspermidyna (Takahashi, Kakehi 2010). W komórkach roślinnych poliaminy występują w stężeniach od mikro- do milimolowych, które są znacznie wyższe od stężeń charakterystycznych dla fitohormonów (Kaur-Sawhney i in. 2003). Związki te są zaangażowane w proces transkrypcji i translacji oraz wykazują istotny wpływ na procesy związane ze wzrostem i rozwojem, między innymi, na: podziały komórkowe, różnicowanie, embriogenezę. U roślin biorą czynny udział w rozwoju organów, kwitnieniu, dojrzewaniu owoców i starzeniu się. Poliaminy występują w naturze nie tylko w stanie wolnym, ale mogą tworzyć specyficzne kompleksy z substancjami wielkocząsteczkowymi: białkami i kwasami nukleinowymi (Bouchereau i in. 1999). Ponadto wielu kwiatom roślin poliaminy nadają zapach przyciągający owady zapylające. Jednocześnie nadają oraz uczestniczą w wydzielaniu nieprzyjemnego zapachu roślin z rodzaju obrazkowatych (*Araceae*), która to woń odstrasza owady i inne szkodniki (Niklas i in. 1998). W ostatnich latach badania na poziomie molekularnym wskazują, że w adaptacji roślin do zmiennych warunków środowiska, uczestniczą hormony. Duży udział w tolerancji roślin na czynniki stresowe przypisuje się poliaminom (Bhatnagar-Mathur i in. 2008).

2. Biosynteza poliamin

U bakterii, grzybów, roślin i ssaków biosynteza poliamin nie zachodzi w sposób jednakowy. Podstawowym źródłem putrescyny w roślinach jest cykl mocznikowy, gdzie dekarboksylacji mogą ulegać różnorodne aminokwasy. Arginina jest najczęściej dekarboksylowana do agmatyny, a następnie poprzez *N*-karbamoiloputrescynę – do putrescyny. U roślin i grzybów agmatyna jest pierwotną poliaminą, która jest przekształcana do putrescyny, a następnie – do spermidyny i sperminy (Ryc. 13.1). Kolejnym aminokwasem wykorzystywanym w biosyntezie poliamin jest cytrulina, która w reakcji dekarboksylacji, przy udziale enzymu dekarboksylazy

ornitynowej i odłączeniu grupy aminowej, przekształca się w putrescynę. Trzecim aminokwasem, obecnym w szlaku biosyntezy poliamin roślinnych jest lizyna, która w wyniku reakcji dekarboksylacji, przekształca się w kadawerynę (Villanuera i in. 1980; Cohen i in. 1983, 1984; Galston, Kaur-Sawhney 1995; Chattopadhyay, Ghosh 1998; Kuznetsov, Shevyakova 2007).



Rycina 13.1. Szlaki biosyntezy poliamin w roślinach

Objaśnienia: 1 – dekarboksylaza ornitynowa, 2 – dekarboksylaza argininowa, 3 – iminohydrolaza agmatynowa, 4 – amidohydrolaza *N*-karbamoiloputrescynowa, 5 – dekarboksylaza SAM, 6 – dekarboksylaza lizynowa, 7 – syntaza spermidynowa, SAM – *S*-adenozylometionina, dSAM – dekarboksylowana SAM, ACC – kwas 1-amino-1-propano-1-karboksylowy

Źródło: Kuznetsov, Shevyakova 2007.

W szlakach biosyntezy poliamin roślinnych, oprócz enzymów katalizujących ich syntezę, wystepują także inhibitory enzymatyczne. Dekarboksylaza argininowa może być nieodwracalnie hamowana przez α-difluorometyloargininę, natomiast dekarboksylaza ornitynowa – przez α-difluorometyloornitynę. Aktywność dekarboskylazy *S*-adenozylometioninowej jest odwracalnie hamowana przez metyloglioksalo-*bis*-guanylohydrazon, a syntazy spermidynowej – przez cykloheksyloaminę. Wykazano, że inhibitory biosyntezy poliamin są aktywne tylko wówczas, gdy poziom poliamin ulega znacznemu obniżeniu (Galston, Kaur-Sawhney 1995; Chattopadhyay, Ghosh 1998). Synteza poliamin i etylenu jest ze sobą powiązana, co

wynika z konkurencji o wspólny prekursor – jeden ze szlaków biosyntezy może być stymulowany, a drugi hamowany. Synteza diaminy – kadaweryny zachodzi w wyniku przemiany lizyny z udziałem dekarboksylazy lizynowej (Bouchereau i in. 1999).

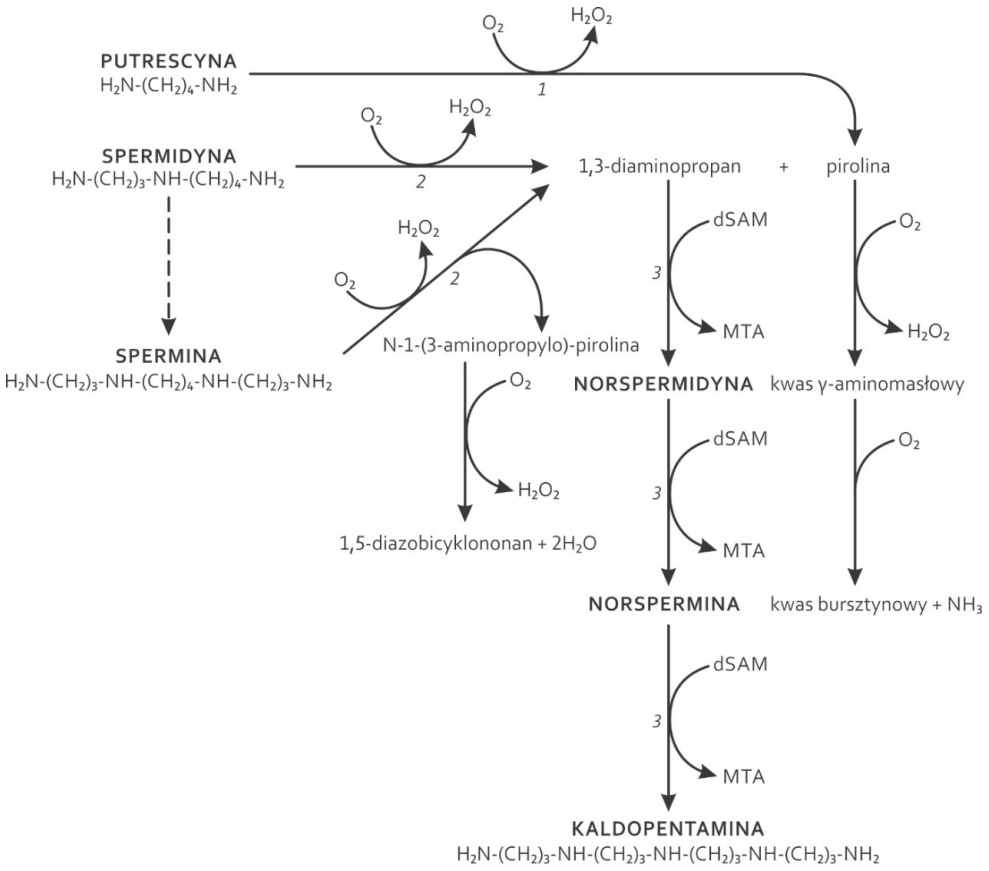
Badania z użyciem powyższych inhibitorów biosyntezy poliamin, wykazały istotny udział poliamin w procesach rozwojowych roślin, takich jak: dojrzewanie owoców, starzenie się liści, rozwój organów reprodukcyjnych, ryzogeneza, podziały komórkowe i wiele innych (Martin-Tanguy 1997, 2001; Niklas i in. 1998). Zastosowanie inhibitorów w kulturach tkankowych potwierdziło oddziaływanie poliamin na szereg procesów rozwojowych, takich jak: podziały komórkowe (Altamura 1993), regeneracja roślin (Baja, Rajam 1995) oraz somatyczna embriogeneza (Minocha, Minocha 1996); na przykład α-difluorometyloarginina hamowała formowanie się somatycznych zarodków w zawiesinie komórkowej marchwi (Slocum, Flores 1991). Wykazano, że dodanie putrescyny, spermidyny czy sperminy może kontrolować tworzenie się zalążków. Ponadto dodanie α-difluorometyloornityny hamowało proces formowania się bulw ziemniaka, jednak w roślinach potraktowanych łącznie α-difluorometyloornityną i putrescyną, nie wywoływało żadnej reakcji (Martin-Tanguy 2001).

3. Katabolizm poliamin u roślin

W roślinach częściowe przemiany metaboliczne spermidyny i sperminy prowadzą do powstania norspermidyny, norsperminy i kaldopentaminy (Ryc. 13.2). Produkty finalne przemian katabolicznych mają znacznie mniejszą aktywność biologiczną w porównaniu z typowymi poliaminami. Przemianę zapoczątkowuje, przy udziale tlenu, oksydaza poliaminowa prowadząca do powstania 3-aminopropylopiroliny, 1,3-diaminopropanu i piroliny. Następnie, przy udziale aminopropylotransferazy i dekarboksylowanej *S*-adenozylometioniny, tworzy się norspermidyna, norspermina i kaldopentamina (Federico, Angelini 1991; Chattopadhyay, Ghosh 1998; Bajguz, Czerpak 1999; Walters 2003).

Degradacja poliamin, takich jak: putrescyna, spermidyna i spermina odbywa się na drodze oksydacyjnej deaminacji przy udziale oksydaz aminowych. Putrescyna pod wpływem oksydazy diaminowej, przy udziale tlenu, przekształca się w pirolinę. Następnie, przez dehydrogenazę piroliny, ulega przekształceniu do kwasu γ-aminomasłowego i dalej do sukcynianów, które mogą być włączone do cyklu Krebsa (Flores, Filner 1985). Natomiast spermina i spermidyna, przy udziale oksydazy poliaminowej, są rozkładane do piroliny bądź do aminopropylopiroliny

i następnie – do diazobicyklononanu. Równolegle, może powstać nadtlenek wodoru i 1,3-diaminopropan mogący w kolejnym etapie ulegać oksydacyjnej deaminacji do β-alaniny. Enzymy: oksydaza diaminowa i poliaminowa oraz dehydrogenaza pirolinowa są związane ze ścianą komórkową, a ich aktywność ma związek z procesami lignifikacji, suberynizacji i usztywnienia ściany komórkowej (Slocum, Furey 1991; Walters 2003). Z kolei kwas γ-aminomasłowy może funkcjonować jako stymulator odporności w roślinach (Bouchereau i in. 1999).



Rycina 13.2. Schemat degradacja poliamin w roślinach

Objaśnienia: 1 – oksydaza diaminowa, 2 – oksydaza poliaminowa, 3 – aminopropylotransferaza, SAM – S-adenozylometionina, dSAM – dekarboksylowana SAM, MTA – 5′-metylotioadenozyna

Źródło: Walters 2003.

4. Aktywność biologiczna poliamin

Pierwsze informacje o aktywności biologicznej poliamin pojawiły się już w 1911 roku, kiedy Ciamician i Ravenna wykazali wpływ putrescyny na bielunia dzięd zierzawę (*Datura stramonium* L.) (Muhich i in. 1983; Bagni, Tassoni 2001). Obecnie wiadomo, że poliaminy charakteryzują się dużą różnorodnością oddziaływania na wiele procesów metabolicznych. Są one zaangażowane w proces transkrypcji i translacji, a także mają istotny wpływ na podziały komórkowe, różnicowanie, embriogenezę. Biorą też czynny udział w rozwoju organów, kwitnieniu, dojrzewaniu owoców, starzeniu się, a także w odpowiedzi na czynniki stresowe (Liu i in. 2006). Poliaminy występują w naturze nie tylko w stanie wolnym, ale mogą tworzyć specyficzne kompleksy z substancjami wielkocząsteczkowymi, w tym z: DNA, RNA i białkami (Muhich i in. 1983; Bouchereau i in. 1999). Poliaminy są składnikami błon cytoplazmatycznych, przeciwdziałają jej degradacji i korzystnie oddziałują na transport metabolitów. Pozytywnie wpływają na wychwytywanie i unieszkodliwianie wolnych rodników (Bachrach 2005). Poliaminy stabilizują cytoszkielet komórek poprzez udział w sieciowaniu białek cytozolowych. Pełnią istotną rolę w polimeryzacji filamentów aktynowych cytoszkieletu. Komórki pozbawione poliamin nie są zdolne do replikacji, a wiązki filamentów aktynowych i mikrotubule zanikają (Coburn i in. 2006; Minocha in. 2014).

Metabolizm poliamin jest powiązany z syntezę etylenu, który jako fitohormon odgrywa istotną rolę procesach wzrostu i rozwoju roślin. Etylen pełni antagonistyczną rolę w stosunku do poliamin (Kaur-Sawhney i in. 2003). Podczas gdy poliaminy hamują starzenie się liści (Kaur-Sawhney i in. 1982), rozwój kultur komórkowych roślin jedno- i dwuliściennych (Muhitch i in 1983) i dojrzewanie owoców (Kakkar, Rai 1993; Kaur-Sawhney i in. 2003), etylen aktywuje wszystkie te procesy.

5. Rola poliamin w odpowiedzi na stresy abiotyczne

Rośliny nieustannie narażone są na zmianę czynników fizyko-chemicznych i biologicznych, takich jak: światło, woda, temperatura, dostępność substancji odżywczych. Poliaminy odgrywają istotną rolę w odpowiedzi roślin na warunki stresowe, a także mają znaczący wpływ na wzrost roślin i ich produktywność (Czerpak, Bajguz 1999; Kubiś 2006; Sobieszczuk-Nowicka, Legocka 2007; Minocha in. 2014).

W wyniku działania czynników stresowych, dochodzi do istotnych zmian w strukturze błon komórkowych, a także zmian biochemiczno-fizjologicznych

wpływających na metabolizm komórkowy. W konsekwencji, u organizmów dochodzi do zmiany ekspresji wielu genów, uczestniczących, między innymi, w syntezie białek i innych metabolitów, które przystosowują rośliny do niekorzystnych, stresowych czynników środowiska. Dochodzi także do wzrostu syntezy poliamin i akumulacji tych związków w tkankach (Tiburico i in. 1997; Chojnacka, Sobieszczuk-Nowicka 2009). Aktywność putrescyny, sperminy i spermidyny wzrasta pod wpływem działania takich czynników stresowych, jak: alkaliczny, kwasowy, osmotyczny, solny, termiczny, nadmiar światła bądź ciemność, uszkodzenia mechaniczne, metale ciężkie, promieniowanie UV-B, niedobór wody, tlenu i potasu, a także pod wpływem infekcji wirusowych (Czerpak, Bajguz 1999). Przeprowadzane badania, głównie dla roślin zbożowych, wykazały, że pod wpływem czynników stresowych, następował wzrost zawartości: putrescyny, sperminy i spermidyny oraz aktywności enzymów katalizujących ich syntezę, szczególnie dekarboksylazy argininowej, bezpośrednio odpowiedzialnej za syntezę putrescyny (Alcázar i in. 2010; Bitrián i in. 2012; Minocha in. 2014).

5.1. Deficyt wody

Susza i stres osmotyczny prowadzą do istotnych zmian w metabolizmie poliamin. Wykazano, że w tych warunkach zwiększa się aktywność dekarboksylazy argininowej, co w efekcie prowadzi do akumulacji putrescyny (Flores, Galston 1984a, b). Stres spowodowany deficytem wody powoduje więdnięcie liści i spadek zawartości białek. Wzrost aktywności dekarboksylazy argininowej, w wyniku stresu osmotycznego, zaobserwowano zarówno na świetle, jak i w ciemności. Światło sprzyja akumulacji putrescyny, proces zachodzi szybko i wymaga syntezy białek *de novo*. W liściach owsa, rosnącego w warunkach stresu osmotycznego, zastosowanie α-difluorometyloargininy powodowało hamowanie dekarboksylazy argininowej, co w konsekwencji zmniejszyło zawartość putrescyny przy wzroście poziomu sperminy (Tiburcio i in. 1997). Wzrost zawartości sperminy, wraz ze zwieszaniem się stresu osmotycznego, zdecydowanie opóźnia, między innymi, rozkład chlorofilu, pojawienie się nekroz, degradację białek tylakoidów, wzrost aktywności dekarboksylazy argininowej (ADC) w liściach owsa. Potraktowanie liści owsa sperminą w warunkach stresu osmotycznego wykazało, że nastąpił wzrost zawartości mRNA dla dekarboksylazy argininy. Jednocześnie zaobserwowano obniżenie aktywności tego enzymu. Brak korelacji spowodowany jest tym, że spermina prowadzi do nagromadzenia nieaktywnej formy enzymu i obniżenia zawartości formy aktywnej (Borell i in. 1996).

5.2. Zasolenie

W wyniku zasolenia dochodzi również do zmian w metabolizmie poliamin, jednak mechanizm tych zmian jest mało poznany. Istotne różnice w zawartości i rodzaju akumulowanych poliamin występują zarówno pomiędzy gatunkami, jak i w obrębie gatunków. Odmiany ryżu, pomidora, sorgo czy kukurydzy tolerancyjne na zasolenie akumulują znaczne więcej sperminy i spermidyny, natomiast zdecydowanie mniej putrescyny. Przeciwnie zachowują się odmiany tych roślin wrażliwych na zasolenie, które akumulują putrescynę, ale nie są zdolne do gromadzenia sperminy i spermidyny (Krishnamurthy, Bhagwat 1984; Erdei i in. 1996; Santa-Cruz i in. 1997). Wzrost aktywności dekarboksylazy argininowej oraz akumulację transkryptu tego enzymu stwierdzono u roślin odpornych na zasolenie. Natomiast u roślin wrażliwych, obniżeniu aktywności enzymu towarzyszyło zmniejszenie zawartości transkryptu. W liściach pomidora aktywność dekarboksylazy argininowej jest wykrywana zarówno w warunkach kontrolnych, jak i stresowych. Aktywność dekarboksylazy ornitynowej występuje jedynie w warunkach zasolenia (Bouchereau i in. 1999; Tassoni i in. 2010).

5.3. Deficyt składników mineralnych

Niedobór składników mineralnych jest jednym z najbardziej powszechnych czynników stresu abiotycznego. Deficyt potasu w jęczmieniu powoduje wzrost zawartości putrescyny w liściach (Richards, Coleman 1952). Jednak mechanizm prowadzący do nagromadzenia putrescyny jest ciągle niejasny. Przypuszcza się, że wzrost jej poziomu, pod wpływem stresu spowodowanego brakiem składników mineralnych, może nie mieć żadnego oddziaływania ani znaczenia dla rośliny (Bouchereau i in. 1999).

5.4. Stres termiczny

Stres spowodowany niską temperaturą powoduje zmianę struktury błon komórkowych (Raison, Lyons 1970). Szkodliwym efektem niskiej temperatury może być zmiana przepuszczalności błony, a także zmiana aktywności białek membranowych. Niska temperatura powoduje wzrost zawartości putrescyny, który jest skorelowany ze wzrostem aktywności ADC, a także genów (*ADC1*, *ADC2*) (Urano i in. 2003; Cuevas i in. 2008a, b). Z drugiej strony, poziom wolnej sperminy i spermidyny pozostaje stały lub zmniejsza się w wyniku działania czynnika stresowego (Alcázar i in. 2010). Brak korelacji pomiędzy zwiększającą się ekspresją genu proenzymu 2 dekarboksylazy SAM (*SAMDC2*) i zmniejszającym się poziomem sper-

miny, może być spowodowany zwiększającym się katabolizmem sperminy (Cuevas i in. 2008a; Alcázar i in. 2010). U roślin odpornych na niską temperaturę ochłodzenie prowadzi najpierw do wzrostu wolnego kwasu abscysynowego (ABA), następnie dekarboksylazy argininowej (ADC), a ostatecznie do wzrostu poziomu wolnej putrescyny. Furidon, inhibitor syntezy kwasu abscysynowego, u roślin przechłodzonych hamuje wzrost wolnego ABA, spowalnia aktywność dekarboksylazy argininowej i powoduje wzrost poziomu wolnej putrescyny; procesy te obserwowane są także u roślin tolerujących niską temperaturę. Sugeruje to, że putrescyna i ABA współuczestniczą w odpowiedzi roślin na stres termiczny (Boucereau i in. 1999).

Rośliny narażone na stres termiczny mają zdolność do biosyntezy rzadkich poliamin o długim łańcuchu węglowym (Cohen 1998), takich jak: termina, kaldina, kaldopentamina. Poziom wolnych i związanych poliamin jest związany z aktywnością dekarboksylazy argininowej i oksydaz poliaminowych. Zawartość poliamin jest wyższa u roślin tolerujących stres termiczny, niż u roślin wrażliwych. Wzrastająca aktywność transglutaminaz wskazuje na podwyższony poziom poliamin w warunkach stresu termicznego (Kuehn i in. 1990; Philipps, Kuehn 1991; Roy, Ghosh 1996).

6. Podsumowanie

Poliaminy są ważnymi regulatorami wzrostu i rozwoju roślin zaangażowanymi w wiele procesów metabolicznych. Poliaminy wchodzą w skład błony cytoplazmatycznej i ściany komórkowej. Wzrost komórek pociąga za sobą zwiększenie zawartości poliamin, natomiast zahamowanie wzrostu wiąże się z zahamowaniem ich syntezy. Ponadto poliaminy odgrywają istotną rolę w adaptacji roślin do różnych czynników stresowych.

Literatura

Altamura M. M. 1993. Cytological events induced by inhibition of polyamine biosynthesis in thin cell layer of tobacco. Protoplasma, 175: 9–16.

Alcázar R., Altabella T., Marco F., Bortolotti C., Reymond M., Koncz C., Carrasco P., Tiburicio A. F. 2010. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. Planta, 231: 1237–1249.

Bachrach U. 2005. Naturally occurring polyamines: interaction with macromolecules. Curr. Protein Pept. Sci., 6: 559–566.

Bagni N., Tassoni A. 2001. Biosynthesis, oxidation and conjugation of aliphatic polyamines in higher plants. Amino Acids, 20: 301–317.

Baja S., Rajam M. V. 1995. Efficient plant regeneration from long-term callus cultures of rice by spermidine. Plant Cell Rep., 14: 717–720.

Bajguz A., Czerpak R. 1999. Metabolizm poliamin. Kosmos, 48: 67–74.

Bhatnagar-Mathur P., Vadez V., Sharma K. K. 2008. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. Plant Cell Rep., 27: 411–424.

Bitrián M., Zarza X., Altabella T., Tiburcio A. F., Alcázar R. 2012. Polyamines under abiotic stress: metabolic crossroads and hormonal crosstalks in plants. Metabolites, 2: 516–528.

Borell A., Besford R. T., Altabell A., Masgrau C., Tiburcio A. F. 1996. Regulation of arginine decarboxylase by spermine in osmotically-stressed oat leaves. Physiol. Plant., 98: 105–110.

Bouchereau A., Aziz A., Larher F., Martin-Tanguy J. 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. Plant Sci., 140: 103–125.

Chattopadhyay M. K., Ghosh B. 1998. Molecular analysis of polyamine biosynthesis in higher plants. Curr. Sci., 74: 517–522.

Chojnacka A., Sobieszczuk-Nowicka E. 2009. Poliaminy w programowanej śmierci komórki. Post. Biol. Kom., 36: 161–169.

Coburn R. F., Labelle E. F., Baron C. B. 2006. Polyamines, PI(4,5)P2, and actin polymerization. J. Cell Physiol., 209: 405–412.

Cohen E., Arad S. M., Heimer Y. H., Mizhahi Y. 1983. Polyamine biosynthetic enzymes in *Chlorella* characterization of ornithine and arginine decarboxylase. Plant Cell Physiol., 24: 1003–1010.

Cohen E., Arad S. M., Heimer Y. H., Mizhahi Y. 1984. Polyamine biosynthetic enzymes in the cell cycle of *Chlorella*. Plant Physiol., 74: 385–388.

Cohen S. S. 1998. A guide to the polyamine metabolism. Oxford University Press, New York, Oxford.

Cuevas J. C., López-Cobollo R., Alcázar R., Zarza X., Koncz C., Altabella T., Salinas J., Tiburcio A. T., Ferrando A. 2008a. Putrescine is involved in *Arabidopsis* freezing tolerance and cold acclimation by regulating abscisic acid levels in response to low temperature. Plant Physiol., 148: 1094–1105.

Cuevas J. C., López-Cobollo R., Alcázar R., Zarza X., Koncz C., Altabella T., Salinas J., Tiburcio A. T., Ferrando A. 2008b. Putrescine as a signal to modulate the indispensable ABA increase under cold stress. Plant Signal Behav., 4: 219–220.

Czerpak R., Bajguz A., 1999. Aktywność fizjologiczno-biochemiczna poliamin w adaptacji roślin do stresów. Post. Biol. Kom., 26: 523–538.

Erdei L., Szegletes Z., Barabas K., Pestenacz A. 1996. Response in polyamine titer under osmotic and salt stress in sorghum and maize seedlings. J. Plant. Physiol., 147: 599–603.

Flores H. E., Filner P. 1985. Polyamine catabolism in higher plants: characterization of pyrroline dehydrogenase. Plant Growth Regul., 3: 277–291.

Flores H. E., Galston A. W. 1984a. Osmotic stress-induced polyamine accumulation in cereal leaves. I. Physiological parameters of the response. Plant Physiol., 75: 102–109.

Flores H. E., Galston A. W., 1984b. Osmotic stress-induced polyamine accumulation in cereal leaves. II. Relation to amino acid pools. Plant Physiol., 75: 110–113.

Federico R., Angelini R. 1991. Polyamines catabolism [W:] R. D. Slocum, H.E. Flores (red.), Biochemistry and physiology of polyamines in plants. CRC Press, Boca Raton, 41–56.

Galston A. W., Kaur-Sawhney R. 1995. Polyamines as endogenous growth regulators. [W:] Davies P. J. (red.), Plant hormones physiology biochemistry and molecular biology. Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, 158–178.

Kakkar R. K., Rai V. K. 1993. Plant polyamines in flowering and fruit ripening. Phytochemistry, 33: 1281–1288.

Kaur-Sawhney R., Shih Flores H. E., Galston A. W. 1982. Relation of polyamine synthesis and titer to aging and senescence in oat leaves. Plant Physiol., 69: 405–410.

Kaur-Sawhney R., Tiburicio A. F., Altabella T., Galston A. W. 2003. Polyamines in plants: an overview. J. Cell Mol. Biol., 2: 1–12.

Krishnamurthy R., Bhagwat K. A. 1984. Polyamines as modulators of salt tolerance in rice cultivars. Plant Physiol., 91: 500–504.

Kubiś J. 2006. Poliaminy i ich udział w reakcji roślin na warunki stresowe środowiska. Kosmos, 55: 209–215.

Kuehn G. D., Rodriguez-Garay B., Bagga S., Phillips G. C. 1990. Novel occurrence of uncommon polyamines in higher plants. Plant Physiol., 94: 855–857.

Kuznetsov V. V., Shevyakova N. I. 2007. Polyamines and stress tolerance of plants. Plant Stress, 1: 50–71.

Liu J.-H., Honda C., Moriguchi T. 2006. Involvement of polyamine in floral and fruit development. JARQ, 40: 51–58.

Martin-Tanguy J. 1997. Conjugated polyamines and reproductive development: biochemical, molecular and physiological approaches. Physiol. Plant., 100: 675–688.

Martin-Tanguy J. 2001. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). Plant Growth Regul., 34: 135–148.

Minocha R., Majumdar R., Minocha S. C. 2014. Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship. Front. Plant Sci., 5: 175.

Minocha S. C., Minocha R.C. 1996. Role of polyamines in somatic embryogenesis. [W:] Bajaj Y. (red.), Biotechnology in agriculture and forestry. Springer-Verlag, New York, 53–57.

Muhich M. J., Edwards L. A., Fletcher J. S. 1983. Influence of diamines and polyamines on the senescence of plant suspension cultures. Plant Cell Rep., 2: 82–84.

Niklas A., Butowit R., Jażdżewska E., Majewska-Sawka A. 1998. Poliaminy w komórce roślinnej: synteza, mechanizm działania i funkcja. Post. Biol. Kom., 25: 33–49.

Philipps G. C., Kuehn G.D. 1991. Uncommon polyamines in plants and other mechanisms. [W:] Slocum R. D., Flores H. E. (red.), Biochemistry and physiology of polyamines in plants. CRC Press, Boca Raton, 121–133.

Raison J. K., Lyons J. M. 1970. Oxidative activity of mitochondria isolated from plant tissues sensitive and resistant to chilling injury. Plant Physiol., 45: 386–389.

Richards F. J., Coleman E. G. 1952. Occurrence of putrescine in potassium deficient barley. Nature, 1970: 460–461.

Roy M., Ghosh B. 1996. Polyamines, both common and uncommon, under heat stress in rice (*Oryza sativa*) callus. Plant Physiol., 98: 196–200.

Santa-Cruz A., Acosta M., Pérez-Alfocea F., Bolarin M. C. 1997. Changes in free polyamine levels induced by salt stress in leaves of cultivated and wild tomato species. Physiol. Plant., 101: 341–346.

Slocum R. D., Flores H. E. 1991. Biochemistry and physiology of polyamines in plants. CRC Press, Boca Raton.

Slocum R. D., Furey M. J. 1991. Electron-microscopic cytochemical localization of diamine and polyamine oxidases in pea and maize tissues. Planta, 183: 443–450.

Sobieszczuk-Nowicka E., Legocka J. 2007. Nowe podejścia w badaniach nad rolą poliamin w komórce roślinnej. Post. Biol. Kom., 34: 527–540.

Takahashi T., Kakehi J. 2010. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. Ann. Bot., 105: 1–6.

Tassoni A., Franceschetti M., Bagni N. 2010. Polyamines and salt stress response and tolerance in *Arabidopsis thaliana* flowers. Plant Physiol. Biochem., 46: 607–613.

Tiburcio A. F., Altabella T., Borrell A., Masgrau C. 1997. Polyamine metabolism and its regulation. Physiol. Plant., 100: 664–674.

Urano K., Yoshiba Y., Nanjo T., Seki M., Sekiguchi F., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. 2003. Characterization of *Arabidopsis* genes involved in biosynthesis of polyamines in abiotic stress responses and developmental stages. Plant Cell Environ., 26: 1917–1926.

Villanuera V. R., Adlakha R. C., Calvayrae R. 1980. Biosynthesis of polyamines in *Euglena gracilis*. Phytochemistry, 19: 787–790.

Walters D. R. 2003. Polyamines and plant disease. Phytochemistry, 64: 97–107.

14 Wykorzystanie biomasy typu *cow dung* do celów energetycznych

Grażyna **Łaska** / Aneta **Szymajda**

Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska
Katedra Inżynierii Rolno-Spożywczej i Kształtowania Środowiska

ul. Wiejska 45A, 15–351 Białystok
e-mail: g.laska@pb.edu.pl

Streszczenie: O wykorzystywaniu biomasy do celów energetycznych decydują aspekty ekologiczne, gospodarcze, społeczne, ekonomiczne i prawne. Obecnie, w Polsce biomasa ma największy potencjał techniczny jako biopaliwo, które ocenia się na 684,6 PJ w skali roku, z czego 407,5 PJ przypada na biopaliwa stałe. Na ich zasoby składają się nadwyżki biomasy pozyskiwanej w rolnictwie (195 PJ), leśnictwie (101 PJ), sadownictwie (57,6 PJ) oraz z odpadów przemysłu drzewnego (53,9 PJ). Celem pracy jest ocena spalania biomasy typu *cow dung* na cele energetyczne. W pracy porównano parametry spalania biomasy pod względem zawartości wilgoci całkowitej, węgla całkowitego, siarki całkowitej, zawartości wodoru, popiołu, a także jej wartości opałowej. Określona optymalizacja procesu spalania biomasy typu *cow dung*, ze względu na różnorodne sposoby jej pozyskania w ciągu roku, składowania i spalania, przyczyni się do wzrostu potencjału energetycznego w bilansie energetycznym kraju, bez ryzyka zagrożenia funkcjonowania środowiska przyrodniczego.

Biomasa pochodzenia zwierzęcego to przede wszystkim odpady zwierzęce stałe (obornik) i płynne (gnojowica). *Cow dung* zawiera 1,8–2,4% azotu (N), 1,0–1,2 fosforu (P_2O_5), 0,6–0,8% potasu (K_2O) i od 50–75% organicznego humusu. Odchody zwierząt mają ogromny potencjał energetyczny. W Stanach Zjednoczonych corocznie jest produkowanych około 250 milionów ton suchego *cow dung*, co odpowiada bilansowi energetycznemu 21 miliardów galonów benzyny. W wielu krajach świata *cow dung* jest wykorzystywane jako nawóz, paliwo, izolator termiczny i materiał budowlany. *Cow dung* zawiera 55–65% metanu i 30–35% dwutlenku węgla, a wyprodukowany przez jedną krowę w ciągu roku i zamieniony na metan, stanowi równowartość ponad 50 litrów benzyny. W bilansie energetycznym, wartość opałowa tego paliwa wynosi od 10 000 do ponad 17 000 kJ/kg, a ilość ciepła uwolniona podczas całkowitego spalania 10 kg/h wynosi około 38,3 kW.

Słowa kluczowe: energia odnawialna, paliwa stałe, odchody krowie, parametry spalania biomasy, wartość energetyczna.

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 197-208

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

W ostatnich dziesięcioleciach na światowych forach naukowych toczy się dyskusja na temat przyszłości energetyki. Wynika to z jednej strony z rosnącego zapotrzebowania na energię, a z drugiej strony – z konieczności zahamowania redukcji emisji gazów wpływających niekorzystnie na zmiany globalnego ocieplania klimatu (Rybak 2006). Dodatkowym czynnikiem motywującym intensywne badania w obszarze energetyki, jest perspektywa wyczerpania ograniczonych zasobów paliw kopalnych (węgla, ropy naftowej, gazu ziemnego) (Ney 2004). Problemem są koszty ich pozyskania i aktualny poziom rozwoju technologii, umożliwiający ich wykorzystywanie. Pomimo trwającej rewolucji technologicznej, wykorzystanie zasobów jest niewspółmiernie małe w porównaniu z drzemiącym w nich potencjałem. Energia odnawialna jest uzyskiwana z powtarzających się procesów przyrodniczych, zasoby stale się uzupełniają, co pozwala traktować ją jako niewyczerpalne źródło energii (GUS 2014).

Obecna polityka energetyczna Polski, zgodna z kierunkami Unii Europejskiej, zmierza do zastępowania energii uzyskiwanej z paliw kopalnych energią z odnawialnych źródeł, w tym z biomasy. Odnawialne źródła energii mają wiele zalet i warto je wykorzystywać, ponieważ są, między innymi, przyjazne dla środowiska naturalnego, niewyczerpalne, ogólnodostępne i charakteryzują się niska ceną (Gendka 2016).

Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Gospodarki, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 9 maja 2004 r., w sprawie szczegółowego zakresu obowiązku zakupu energii elektrycznej i ciepła z odnawialnych źródeł energii, biomasa to substancje pochodzenia roślinnego i zwierzęcego, które ulegają biodegradacji, pochodzące z produktów, odpadów i pozostałości z produkcji rolnej i leśnej, a także z przemysłu przetwarzającego ich produkty oraz części pozostałych odpadów, które ulegają biodegradacji (Dz. U. 2004, Nr 267, poz. 2655 i 2656). Biomasa pochodzenia zwierzęcego, to odpady zwierzęce stałe (obornik) i płynne (gnojowica) (Roszkowski 2013). Biopaliwa stałe należą do grupy najważniejszych źródeł energii. Energetyczne użytkowanie biopaliw stałych może w znaczący sposób umożliwić Polsce i innym krajom UE osiągnięcie celów polegających na zwiększeniu udziału odnawialnych źródeł w produkcji energii, zmniejszeniu emisji zanieczyszczeń, w tym CO_2, zapewnieniu bezpieczeństwa energetycznego oraz utworzeniu wolnego rynku paliw i energii (Rybak 2006). Celem niniejszej pracy jest ocena spalania biomasy typu *cow dung* na cele energetyczne i uzyskanie odpowiedzi na temat optymalizacji tego procesu przy uwzględnieniu różnorodnych kryteriów, sposobów pozyskiwania, składowania i spalania.

2. Obiekt badań

Przedmiotem badań jest biomasa stała typu *cow dung*. Energia przechowywana w odpadach zwierzęcych jest uwalniana podczas procesu spalania oraz wykorzystana do produkcji ciepła i energii elektrycznej, a ponadto powoduje zmniejszenie emisji dwutlenku węgla. W Indiach spalanie odchodów zwierzęcych na masową skalę jest źródłem pozyskiwania elektryczności (Sfez i in. 2017). Wyschnięte odchody stosowane są również jako paliwo w ogniskach i piecach. Korzyści płynące ze spalania *cow dung* są znaczne (Kumar, Shende 2006, Bhattacharjya, Yu 2014).

Cow dung, jako gnojowica jest zbierana i wykorzystywana do produkcji biogazu stosowanego do wytwarzania energii elektrycznej i ciepła (Alfa i. in. 2014, Zahid, Surindra 2017). Służy również jako materiał do wykładania podłóg i ścian, dzięki właściwościom odstraszającym owady, jest używana przez wiele firm do produkcji repelentów przeciw komarom. Odchody krowie używa się też do wyrównywania ścian domów rustykalnych, ponieważ jest to najlepszy i tani izolator (Tanmoy i. in. 2014).

Obornik krowi jest na świecie jednym z produktów ubocznych działalności rolniczej, która w ostatnich latach wytwarza duże ilości odpadów zwierzęcych. W USA, głównym źródłem nawozów jest hodowla krów, bydła wołowego, drobiu i trzody chlewnej. Przemysł bydła wołowego wytwarza ok. 24,4 mln ton nawozu rocznie, hodowla bydła – 19 mln ton obornika, hodowla drobiu – 12,7 mln ton ściółki i obornika, a produkcja trzody chlewnej wytwarza ekwiwalent obornika na 14,5 mln ton (http://www.wood-pellet-machinery.com/FAQ/116.html).

W Polsce liczba pogłowia zwierząt w postaci bydła corocznie wzrasta. W województwie podlaskim, w 2016 roku zanotowano około 960 tys. sztuk bydła, co od 2011 roku stanowi przyrost o niemal 65 tys. sztuk (z 895 tys.) (Tab. 14.1).

Tabela 14.1. Zmiany liczby sztuk bydła w Polsce i województwie podlaskim w latach 2011–2016

Pogłowie zwierząt: bydło	Lata					
	2011	2012	2013	2014	2015	2016
	Liczba sztuk					
Polska	5 500936	5 520345	5 589543	5 660271	5 762534	5 970214
Woj. podlaskie	895 052	881 972	930 818	938 709	952 377	959 788

Źródło: www.gus.stat.gov.pl.

Warto jednak pamiętać, że tylko niektóre z produktów ubocznych działalności rolniczej mogą być użyte jako nawozy. Ich nadmiar powoduje zanieczyszczenie środowiska, ale też i marnotrawstwo tych zasobów. Jedną z możliwości jest wykorzystanie obornika jako bezpośredniego lub pośredniego źródła paliwa w szerokim zakresie zastosowań termicznych, takich jak kotły i piece grzewcze (Bębenek 2008).

Powodem, dla którego krowiego łajna można używać jako paliwa, jest to, że krowy spożywają różnorodne pokarmy, takie jak: trawa, liście, ziarna, łodygi pszenicy, oraz fakt, iż dokładnie żują żywność. Obornik tych zwierząt składa się z wielu łatwopalnych włókien, co sprawia, że materiał ten wykazuje doskonałe właściwości jako paliwo, ponadto wymaga krótkiego czasu do zebrania i jest łatwo dostępny. *Cow dung* zawiera dużą ilość energii do wykorzystania jako zrównoważone i odnawialne źródło, co przyczynia się do zachowania zasobów i lepszego wykorzystania tzw. odpadów organicznych (Kartikey i in. 2016).

3. Materiały źródłowe

Na podstawie literatury (Vankát i in. 2009), analizowano badania prowadzone w Indiach, w Himalajach indyjskich, w sezonie letnim 2009 roku. Jednym z zasobów energii cieplnej, która jest szeroko wykorzystywana w tych krajach, są wysuszone odchody zwierząt domowych (bydła). Uwagę zwrócono na techniki zbierania biomasy zwierzęcej, sposób jej przechowywania, właściwości pieców oraz właściwości gnojowicy. Uwzględniono również eksperymenty spalania biomasy w Czechach. Obejmowały one analizę właściwości paliw, tj.: wartości kaloryczne, lotne właściwości palne, właściwości popiołu i analizę podstawowych elementów (C, H, N, S, O, Cl).

W analizie porównawczej parametrów procesu spalania, uwzględniono wyniki badań pochodzących z Elektrociepłowni Białystok (Tab. 14.2) dla różnych rodzajów spalanej biomasy, mianowicie: wierzby energetycznej, zrębek i peletu z łusek słonecznika. Określono parametry spalania pod względem zawartości wilgoci całkowitej i analitycznej, węgla całkowitego, siarki całkowitej, zawartości wodoru, popiołu, ciepła spalania i wyliczonej wartości opałowej. Badania wykonano na podstawie Polskich Norm i Procedur Technicznych Instytutu Chemicznej Przeróbki Węgla.

Tabela 14.2. Parametry spalania biomasy pochodzenia roślinnego

Oznaczany parametr	Wartości z wierzby energetycznej	Wartości ze zrębek	Wartości peletu z łusek słonecznika
Zawartość wilgoci całkowitej	43%	46,3%	7,9%
Zawartość wilgoci analitycznej	6,8%	6,1%	7,3%
Zawartość węgla całkowitego	46,24%	47,92%	47,78%
Zawartość siarki całkowitej	0,05%	0,02%	0,12%
Zawartość wodoru	5,17%	6,36%	5,63%
Zawartość popiołu	5,3%	2,2%	2,6%
Wartość opałowa	9,22 MJ/kg	9,09 MJ/kg	17,16 MJ/kg

Źródło: Elektrociepłownia Białystok 2016.

4. Spalanie biomasy jako sposób pozyskiwania energii

Spalanie biomasy jest najprostszym i zarazem najstarszym sposobem pozyskiwania energii. Na wybór techniki i technologii spalania istotny wpływ ma rodzaj spalanej biomasy. Biomasę przeznaczoną na cele energetyczne klasyfikuje się ze względu na (Dreszer i in. 2003; Kowalczyk-Juśko 2010; Kuś, Faber 2010):

a) pochodzenie:
- biomasa leśna (dendromasa),
- biomasa pochodzenia rolniczego (agromasa),
- odpady pochodzenia zwierzęcego (zoomasa);

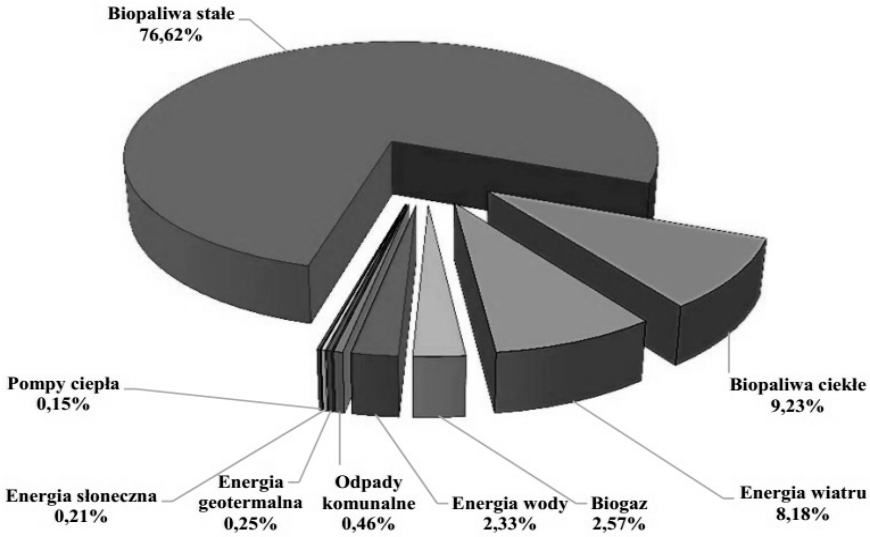
b) stan skupienia:
- biomasa w stanie stałym (biomasa leśna i roślinna),
- biomasa w stanie gazowym (biogaz),
- biomasa w stanie ciekłym (biopaliwa);

c) stopień przetworzenia:
- pierwotne (drewno, słoma, rośliny energetyczne),
- wtórne (gnojowica, osady ściekowe, obornik),
- przetworzone (biogaz, bioetanol, estry oleju rzepakowego);

d) odpady z produkcji:
- rolniczej (słoma, siano, gałęzie z sadów),
- zwierzęcej (pochodzące z uboju zwierząt),
- leśnej (pozostałości pochodzące z przemysłu przetwarzającego biomasę drzewną),

- przemysłowej (wysłodki, wytłoki browarniane, odpady produkcyjne z przetwórni ziemniaków itp.).

Struktura pozyskania energii ze źródeł odnawialnych w Polsce wynika przede wszystkim z charakterystycznych dla kraju warunków geograficznych i możliwych do zagospodarowania zasobów. Energia pozyskiwana ze źródeł odnawialnych w Polsce, w przeważającym stopniu pochodzi z biopaliw stałych (77%) i z biopaliw ciekłych (9%), z energii wiatru (8%) oraz z biogazu (2,6%) i wody (2,3%) (Ryc. 14.1).

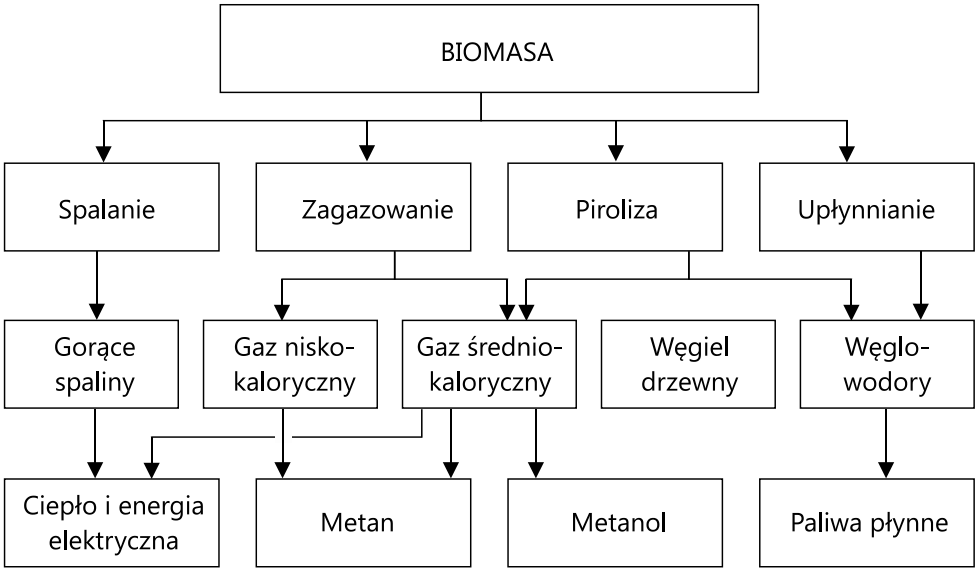


Rycina 14.1. Pozyskanie energii ze źródeł odnawialnych według nośników w Polsce w 2014 roku

Źródło: GUS, energia ze źródeł odnawialnych w 2014 r.

Biomasę przetwarza się na drodze trzech grup procesów: fizycznych, termiczno-chemicznych i biologicznych (Gołek 2010). Dziś gospodarka światowa dysponuje czterema technologiami przetwarzania biomasy (Ryc. 14.2), jest to: spalanie, zgazowanie, piroliza i upłynnianie. W niniejszej pracy zwrócono uwagę na technologię spalania biomasy.

Spalanie jest to reakcja chemiczna, związana z uwolnieniem znacznych ilości ciepła i światła. Proces spalania wymaga odpowiedniej ilości tlenu dostarczanego z powietrzem. Jego ilość zależy od masy oraz rodzaju surowca. Paliwo i powietrze do spalania nazywane są substratami, podczas gdy spaliny i stałe pozostałości po paliwie (popiół i żużel), stanowią produkty uboczne spalania.



Rycina 14.2. Technologie, produkty pośrednie i końcowe termochemicznej konwersji biomasy

Źródło: Głodek 2010.

Skład chemiczny i fizyczny spalanej substancji jest najważniejszą informacją określającą jej przydatność jako paliwa. Podstawową informacją o składzie paliwa jest rodzaj i ilość pierwiastków ulegających spaleniu. Spełnienie warunków dobrego wymieszania paliwa z powietrzem oraz odpowiedniej temperatury w palenisku zapewnia prawidłowe spalanie. Im bardziej paliwo jest niejednorodne i gorsza jest jego jakość, tym bardziej wyszukany musi być system spalania (Gołek 2010).

5. Porównanie parametrów spalania biomasy pochodzenia zwierzęcego i roślinnego oraz wpływ spalania na wykorzystane kotły

Modelowanie procesu spalania biomasy w kotle wymaga zwrócenia uwagi na zjawiska fizyko-chemiczne tam występujące (Wisz, Matwiejew 2005).

W procesie spalania paliwa popiół oraz jego ilość odgrywa zasadnicze znaczenie. Duża zawartość alkaliów oraz agresywnego chemicznie chloru może powodować korozję urządzeń energetycznych oraz powstawanie osadów na powierzchniach grzewczych kotła (Grabke i in. 1995). W badaniach prowadzonych w Indiach i Czechach stwierdzono, że zawartość popiołu w odchodach zwierzęcych mieści się

w granicach od 11,62% do 32,16% (Ryc. 14.3), i jest to wartość o wiele większa niż w biomasie pochodzenia roślinnego (2,2%–5,3%) (Tab. 14.2). Istotnym elementem jest oznaczenie składu chemicznego popiołu. To właśnie skład chemiczny, a konkretnie obecność łatwotopliwych tlenków metali alkaicznych sprawia, że popiół z biomasy topi się w o wiele niższych temperaturach niż popiół z węgla. Popiół z biomasy jest nieraz płynny już w temperaturze 800°C, co może być jedną z przyczyn spiekania i aglomeracji popiołów prowadzących do defluidyzacji złoża fluidalnego (Rybak 2006). Temperatura mięknięcia popiołu odchodów zwierzęcych mieści się w przedziale od 1110 do 1170°C, natomiast temperatura topnienia wynosi od 1130 do 1200°C (Tab. 14.3). W przeprowadzonym prostym eksperymencie procesu spalania *cow dung*, osiągnięto od 900 do 1200°C temperatury spalin.

Korozja wysokotemperaturowa występuje w kotłach zawsze, ale w normalnych warunkach eksploatacji, tempo ubywania metalu jest 8–10 nm/h, co umożliwia bezawaryjną dziesięcioletnią eksploatację kotła (Golec 2004). Z badań wynika, że paliwo typu *cow dung* zawiera chlor w przedziale od 0,1%–0,27% (Tab. 14.3), które może powodować zagrożenie korozyjne, co wskazuje na fakt, że temperatura spalania wymaga optymalizacji w zakresie wykorzystywanych kotłów i złoża fluidalnego.

Zawartość węgla całkowitego, wodoru i siarki w biomasie typu *cow dung* jest zbliżona do wartości dla wierzby energetycznej, peletu z łusek słonecznika i zrębek.

Kolejnym analizowanym parametrem jest wilgoć. Ma ona znaczenie nie tylko jako czynnik decydujący o wartości opałowej i emisji zanieczyszczeń, ale jest również istotna z uwagi na technologię spalania, transport, magazynowanie, automatyzację podawania do kotła i warunki jego eksploatacji (Głodek 2010). Wartość energetyczna biopaliwa stałego rośnie wraz ze spadkiem wilgoci (Tab. 14.2). Im bardziej suche jest biopaliwo, tym mniej energii potrzeba do odparowania wody w procesie spalania, i tym efektywniejszy jest proces energetyczny. Stwierdzono, że początkowa zawartość wilgoci w paliwie typu *cow dung* wynosi ok 40%. Ze względu na charakterystyczną strukturę odchodów zwierzęcych, należy zastosować proces suszenia przed podawaniem ich do kotła (Parsamehr, Nilsson 2012). Suszenie jest procesem, w którym zmniejsza się zawartość wody w materiałach, zarówno wolnej wody występującej na powierzchni, jak również wilgoci z wnętrza materiału.

Wartość opałowa wszystkich rodzajów biomasy ściśle zależy od jej wilgoci (Tab. 14.2). Waha się ona od 6 do 8 MJ/kg – dla biomasy o wilgoci 50–60% do 15–17 MJ/kg – dla biomasy podsuszonej, której wilgoć wynosi 10–20% (Grzybek 2003). Wartość energetyczna biomasy typu *cow dung* jest zbliżona do wartości energetycznej biomasy pochodzenia roślinnego, i w zależności od jej paramentów fizyko-chemicznych, wynosi od 11,08 MJ/kg do 16,29 MJ/kg (Tab. 14.3). Teore-

tycznie, zależy ona głównie od stopnia uwęglenia spalanego materiału, czyli od jego składu chemicznego, który umożliwia określenie wartości opałowej, na podstawie zawartości pierwiastków palnych w jej składzie (Mółka, Łapczyńska-Kordon 2011). Jak potwierdzają badania, wilgoć jest czynnikiem zdecydowanie obniżającym jakościowy parametr energetyczny paliwa (Tab. 14.2–14.3). Im mniejsza zawartość wilgoci w odchodach, tym większa wartość opałowa. Zawartość wilgoci zależy również od sezonowości.

Tabela 14.3. Parametry spalania odchodów zwierzęcych

Miejsce pochodzenia	Vyskov (Indie)	Himalaya (Indie)	Himalaya (Indie)	Chomutov (Czechy)	Prague (Czechy)
Zawartość wilgoci (%)	2,6	4,36	5,17	4,86	4,62
Palne związki lotne (%)	67,17	52,8	50,77	61,89	67,32
Palne związki nielotne (%)	18,61	11,68	11,87	11,57	7,99
Zawartość popiołu (%)	11,62	31,16	32,19	21,68	20,07
C (%)	42,87	32,52	29,89	39,79	41,14
H (%)	5,69	3,85	3,43	5,48	4,97
N (%)	1,6	1,84	2,21	1,13	0,9
S (%)	0,18	0,18	0,2	0,13	0,19
O (%)	35,44	26,09	26,91	26,93	28,11
Cl (%)	0,14	0,2	0,27	0,1	0,14
Wartość opałowa górna (MJ/kg)	17,59	13,41	11,95	15,72	16,31
Wartość opałowa dolna (MJ/kg)	16,29	12,47	11,08	14,41	15,12
Popiół:					
Temperatura mięknięcia (°C)	1110	1120	1130	1170	1120
Temperatura topnienia (°C)	1160	1130	1150	1200	1160
Temperatura przepływu (°C)	1210	1140	1160	1230	1170

Źródło: Vankát i in. 2009.

6. Podsumowanie

Rynek produkcji energii OZE powstał w Polsce w 2005 roku, a impulsem jego uruchomienia był nałożony na Polskę przez Unię Europejską obowiązek produkcji corocznie powiększanej ilości energii w oparciu o źródła odnawialne (od 3,1% w 2005 roku do 14% w 2020 roku).

Elektrownie poczyniły znaczne inwestycje, angażując środki własne, zaciągając wieloletnie kredyty bankowe i wykorzystując unijne fundusze. Dla wsparcia rozwoju energetyki odnawialnej, w 2005 roku wdrożono w Polsce tzw. system zielonych certyfikatów, co pozwalało zrekompensować podwyższone, w stosunku do konwencjonalnych, koszty zielonej energii. Gwałtowny spadek wartości zielonych certyfikatów, który miał miejsce na początku 2013 roku oraz stałe utrzymywanie się ich na niskim poziomie, nie daje możliwości rekompensowania kosztów produkcji energii z OZE. W tym momencie zielone certyfikaty są 10 razy tańsze niż były na początku 2005 roku. Zjawisko to spowodowało zaprzestanie lub znaczne ograniczenie odbioru biomasy przez koncerny energetyczne.

Współczesny świat nie może obejść się bez energii. Aby zapewnić jej stały dostęp, najlepiej byłoby wykorzystać źródła energii, które są odnawialne, tanie i nie będą niszczyć środowiska. Istnieje więc potrzeba szukania nowych, alternatywnych i ogólnodostępnych surowców opałowych, które będą miały niską, konkurencyjną cenę, a zarazem wysoką wartość energetyczną. Odpowiedzią na to jest biomasa typu *cow dung*. W celu wysokiego efektu energetycznego tego biopaliwa stałego, należy je wysuszyć, odpowiednio przygotować oraz spalać w przystosowanych kotłach. Ponieważ *cow dung* charakteryzuje się dużą zawartością popiołu, należy badać skład chemiczny tej biomasy i określić jej późniejsze wykorzystanie.

Kotły w polskich elektrowniach są przystosowane do spalania biomasy, ale nie ma w polskiej literaturze danych na temat biomasy typu *cow dung*. Czy nadaje się ona do spalania w istniejących instalacjach, czy też należy zaprojektować specjalne kotły uwzględniające jej właściwości potwierdzone badaniami fizyko-chemicznymi? Rozpoczęte badania w zakresie optymalizacji całego procesu spalania biomasy typu *cow dung* w kolejnych latach będą poszukiwaniem odpowiedzi na te pytania.

Literatura

Alfa I. M., Dahunsi S. O., Iorhemen O. T., Okafor C. C., Ajayi S. A., 2014. Comparative evaluation of biogas production from Poultry droppings, Cow dung and Lemon grass. Bioresource Technol., 157: 270–277.

Bębenek Z. 2008. Biopaliwa stałe w odnawialne i niekonwencjonalne źródła energii. Poradnik. Wydawnictwo Tarbonus, Kraków.

Bhattacharjya D., Yu J-S. 2014. Activated carbon made from cow dung as electrode material for electrochemical double layer capacitor. J. P. Sources, 262: 224–232.

Dreszer K., Michałek R., Roszkowski A. 2003. Energia odnawialna – możliwości jej pozyskiwania i wykorzystania w rolnictwie. PTIR, Kraków–Lublin–Warszawa.

Dziennik Ustaw Nr 267 poz. 2655 i 2656. Ustawa z dnia 9 grudnia 2004 r. w sprawie szczegółowego zakresu obowiązku zakupu energii elektrycznej i ciepła wytworzonych z odnawialnych źródeł energii.

Elektrociepłownia Białystok. 2016. Dane źródłowe – Parametry spalania biomasy pochodzenia roślinnego.

Gendka A. 2016. Problemy gospodarki energią i środowiskiem w rolnictwie, leśnictwie i przemyśle spożywczym. NFOŚiGW, Warszawa.

Głodek E. 2010. Spalanie i współspalanie biomasy. Przewodnik. Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Opole.

Główny Urząd Statystyczny. 2014. Notatka informacyjna Energia ze źródeł odnawialnych w 2014 r., Warszawa.

Główny Urząd Statystyczny. 2014. Publikacja: Zasady metodyczne badań statystycznych z zakresu energii ze źródeł odnawialnych, Warszawa.

Golec T. 2004. Współspalanie biomasy w kotłach energetycznych. Instytut Energetyki, Zakład Procesów Cieplnych, Zakopane.

Grabke H. J., Reese E., Spiegel M. 1995. The effect of chlorides, hydrogen chloride and sulfur dioxide in the oxidation of steels below deposits. Corros. Sci., 37: 1023–1043.

Grzybek A. 2003. Kierunki zagospodarowania biomasy na cele energetyczne. Instytut Budownictwa Mechanizacji i Elektryfikacji Rolnictwa, Wieś Jutra.

Kartikey G., Kamal A., Deepanshu R. 2016. Current status of cow dung as a bioresource for sustainable development. Bioresources and Bioprocessing, 3(1): 1–11.

Kowalczyk-Juśko A. 2010. Metodyka szacowania regionalnych zasobów biomasy na cele energetyczne. Zeszyty Naukowe SGGW – Ekonomika i Organizacja Gospodarki Żywnościowej, 85: 103–116.

Kumar J. S., Shende D. 2006. Combustion of cow dung in fluidized state for household purposes. Advances in Energy Research.

Kuś J., Faber A. 2010. Produkcja roślinna na cele energetyczne a racjonalne wykorzystanie rolniczej przestrzeni produkcyjnej Polski. Mat. I Kongresu Nauk Rolniczych Nauka-Praktyce. IUNG, Puławy: 63–77.

Mółka J., Łapczyńska-Kordon B. 2011. Właściwości energetyczne wybranych gatunków biomasy. Inżynieria Rolnicza, 15(6): 141–147.

Ney R. 2004. Efektywność wykorzystania energii ważnym zadaniem polityki energetycznej. Polityka Energetyczna 8: 11–24.

Parsamehr M., Nilsson N. 2012. Heat generation by cow dung incineration in the north of Iran. Environmental Engineering Department. Mid Sweden University.

Roszkowski A. 2013. Energia z biomasy – efektywność, sprawność i przydatność energetyczna. Cz. 1. Problemy Inżynierii Rolniczej, 1(79): 97–124.

Rybak W. 2006. Spalanie i współspalanie paliw stałych. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław.

Sfez, S., De Meester S., Dewulf J. 2017. Co-digestion of rice straw and cow dung to supply cooking fuel and fertilizers in rural India: Impact on human health, resource flows and climate change. Sci. Total Environ., 609: 1600–1615.

Tanmoy K., Indira S., Ranjit K., Sampa D., Boruah, R. K., Amrit K., Dilip K. 2014. Composting of cow dung and crop residues using termite mounds as bulking agent. Bioresource Technol., 169: 731–741.

Wisz J., Matwiejew A. 2005. Biomasa – badania w laboratorium w aspekcie przydatności do energetycznego spalania, Energetyka, 9: 631–636.

Vankát A., Krepl V., Kára J. 2009. Animal dung as a source of energy in remote areas of indian Himalayas. Czech University of Life Sciences Prague, Czech Republic.

Zahid G.R., Surindra S. 2017. Anaerobic digestion of activated sludge, anaerobic granular sludge and cow dung with food waste for enhanced methane production. J Clean. Prod., 164: 557–566.

http://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:656891/FULLTEXT01.pdf

https://www.eea.europa.eu/pl

https://www.google.pl/maps/place/Dziękonie

https://www.stat.gov.pl

http://www.wood-pellet-machinery.com/FAQ/116.html

15 Perspektywy zastosowania brassinosteroidów w rolnictwie i ochronie środowiska

Marta **Talarek-Karwel** / Andrzej **Bajguz**

Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny
Instytut Biologii, Zakład Biochemii Roślin i Toksykologii

ul. K. Ciołkowskiego 1J, 15–245 Białystok
e-mail: marta_1990r@wp.pl

Streszczenie: Od lat naukowcy poszukują sposobu na zwiększenie produktywności roślin rolnych oraz intensyfikacji działań mających na celu ochronę środowiska przed toksycznymi substancjami organicznymi i nieorganicznymi. Obiecującym rozwiązaniem może być wykorzystanie brassinosteroidów, wysokoaktywnych, roślinnych hormonów steroidowych. Fitohormony te związane są z molekularnymi, biochemicznymi oraz fizjologicznymi odpowiedziami roślin. Działają na: kiełkowanie nasion, podziały i wydłużanie komórek, różnicowanie naczyń, starzenie, fotosyntezę, aktywność enzymów. Znacząco zwiększają produkcję biomasy roślin, przyspieszają ich wzrost, wpływają na akumulację ksenobiotyków oraz na ich detoksykację, a także wspomagają odporność roślin na stres. Ponadto nie są szkodliwe dla innych organizmów żywych. Zastosowanie ich w celu osiągania większych plonów, a także w ochronie przed niekorzystnym wpływem metali ciężkich czy związków organicznych, jest praktyczne i ekonomicznie opłacalne. Postęp technologii syntezy chemicznej zwiększa szansę praktycznego wykorzystania brassinosteroidów w rolnictwie i ochronie środowiska.

Słowa kluczowe: brassinolid, 24-epibrassinolid, fitohormony, steroidy, stres abiotyczny

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2017 / ISBN 978-83-945205-6-4
strony: 209-217

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu
Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych
redakcja naukowa: Grażyna Łaska

1. Wstęp

Różnorodne czynniki środowiskowe o charakterze biologicznym, chemicznym i fizycznym kształtują życie w ekosystemach. Wpływają one na modyfikację procesów morfologicznych i fizjologicznych w organizmach roślinnych. Większość substancji pochodzenia endogennego oraz egzogennego bierze udział w regulacji tych procesów. Mogą one wywierać różnorodny wpływ na intensywność procesów metabolicznych, począwszy od stymulującego, poprzez modyfikujący – do inhibicyjnego. Efekt metaboliczny zależy między innymi od warunków otaczającego środowiska, gatunku rośliny, jej stanu fizjologicznego, a także od budowy chemicznej związków, ich struktury przestrzennej oraz powinowactwa do odpowiednich receptorów komórkowych (Davies 2004; Bajguz 2007).

W ostatnim czasie coraz więcej uwagi poświęca się badaniom dotyczącym substancji wykazujących właściwości regulatorów wzrostu i rozwoju roślin. Do przedstawicieli tych związków należą fitohormony, strukturalnie proste związki organiczne, powszechnie występujące w roślinach oraz biologicznie aktywne w bardzo niskich stężeniach, wykluczających ich funkcje budulcowe czy odżywcze. Hormony roślinne, w odróżnieniu od innych związków organicznych, charakteryzują się działaniem plejotropowym, przejawiającym się indukowaniem odrębnych odpowiedzi fizjologicznych w różnych komórkach docelowych, będących skutkiem działania tego samego związku (Bajguz, Tretyn 2003a; Davies 2004).

2. Brassinosteroidy

Brassinosteroidy stanowią szeroko rozpowszechnioną grupę steroidowych hormonów roślinnych. Oprócz auksyn, cytokinin, giberelin, kwasu abscysynowego oraz etylenu, reprezentują szóstą klasę fitohormonów (Bajguz 2011). Wyizolowany z pyłku rzepaku (*Brassica napus*) w 1979 roku brassinolid (BL), pierwszy zidentyfikowany związek z grupy steroidowych hormonów roślinnych, zainicjował serię badań dotyczących ich wpływu na rośliny. Dotychczas poznano 62 naturalnie występujące brassinosteroidy, których obecność potwierdzono u roślin okrytonasiennych, nagonasiennych, glonów, mszaków oraz paprotników (Bajguz, Tretyn 2003b; Kanwar i in. 2017). Brassinosteroidy wykazują wysoką aktywność biologiczną w stężeniach około tysiąckrotnie niższych niż inne dotychczas poznane hormony roślinne, wpływając na metabolizm, wzrost i rozwój roślin. Najbogatszym źródłem brassinosteroidów są ziarna pyłku oraz niedojrzałe nasiona. W pędach,

liściach i korzeniach notuje się ich niższą zawartość. Brassinosteroidy odgrywają ogromną rolę w procesach rozwojowych i fizjologicznych, oddziałując między innymi, na: podziały i wydłużanie komórek, syntezę DNA, RNA oraz białek, wpływają na aktywność fotosyntetyczną roślin, organizację mikrotubul, wiązanie azotu oraz stymulują pompę protonową. Ponadto, inicjują rozwój łagiewki pyłkowej, embriogenezę, kiełkowanie nasion, kwitnienie oraz hamują starzenie i obumieranie liści. Wpływ brassinosteroidów na rośliny przejawia się również skróceniem okresu wegetatywnego, wzrostem wielkości i ilości owoców oraz składników odżywczych w nich zawartych. Fitohormony te znacząco zwiększają ilość i jakość plonów, chroniąc przy tym rośliny przed niekorzystnymi warunkami środowiska (Hayat i in. 2010).

3. Możliwości zastosowania brassinosteroidów w rolnictwie i ochronie środowiska

Na przestrzeni ostatnich lat wzrasta zainteresowanie praktycznym wykorzystaniem naturalnie występujących, ekologicznie bezpiecznych regulatorów wzrostu i rozwoju roślin. W związku z tym, że brassinosteroidy przyczyniają się do podwyższania plonów, chroniąc przy tym rośliny przed niekorzystnymi warunkami środowiska, mogą zostać wykorzystane jako składniki komercyjnie stosowanych preparatów w rolnictwie, ogrodnictwie czy sadownictwie. Dotychczas kluczową rolę w polepszaniu produkcji roślinnej pełniły auksyny, cytokininy, gibereliny, etylen czy kwas abscysynowy (Jankiewicz 1997). Dzięki prowadzonym licznym, rokującym nadzieję badaniom, mającym na celu określenie wpływu brassinosteroidów na rośliny, w niedalekiej przyszłości możliwe będzie praktyczne wykorzystanie tych fitohormonów na dużą skalę. Brassinolid, 24-epibrassinolid (EBL) oraz 28-homobrassinolid (HBL) są przedstawicielami brassinosteroidów wykazujących największą aktywność biologiczną w bardzo niskich stężeniach, dlatego też są najczęściej stosowanymi egzogennymi związkami wykorzystywanymi w eksperymentach na różnorodnych roślinach uprawnych, takich jak: rośliny strączkowe, warzywa, owoce, zboża i inne (Ali 2017). Badania nad wpływem brassinosteroidów, prowadzone na różnorodnych gatunkach roślin w Indiach, Chinach, Japonii, Rosji i Białorusi potwierdziły, iż egzogenne fitohormony, w zależności od metody ich aplikacji, etapu wzrostu rośliny oraz warunków środowiska, zwiększają ilość oraz jakość plonów. Najlepsze efekty stosowania brassinosteroidów w uprawie roślin uzyskano w wyniku namaczania nasion przed wysiewem. Opryskiwanie liści brassinosteroi-

dami natomiast daje efekty we wczesnej fazie rozwoju roślin (Khripach i in. 2000; Barbafieri, Tassi 2011). Badania nad wpływem brassinosteroidów na plon arbuza dowiodły, iż opryskiwanie liści korzystnie wpłynęło na wzrost i jakość otrzymanych owoców. Uzyskano szybszy przyrost biomasy oraz stwierdzono wzrost zawartości cukrów oraz karotenów, między innymi likopenu (Susila i in. 2012). Zastosowanie łączne EBL i nawozów mineralnych, np. azotowo-fosforowo-potasowych, spowodowało zwiększenie wydajności i poprawę jakości upraw jęczmienia, owsa, żyta, pszenicy oraz ziemniaka (Barbafieri, Tassi 2011). Ponadto, zastosowanie HBL na plantacjach ziemniaka, bawełny, ryżu, pszenicy, orzeszków ziemnych przejawiło się wzrostem ilości plonów od 20% do 50% (Janeczko 2005).

Dotychczas jedynie trzy kraje wprowadziły do użytku preparaty na bazie brassinosteroidów. Od 1992 roku Epin2 jest oficjalnie zarejestrowanym w Rosji i Białorusi stymulatorem wzrostu roślin, którego aktywnym składnikiem jest EBL. Preparat ten stosowany jest w celu zwiększenia plonów jęczmienia, pieprzu, pomidora, ziemniaka czy ogórka. Innym związkiem, na bazie naturalnie występującego EBL i jego syntetycznego 22*S*,23*S* izomeru, jest Tianfengsu stosowany w Chinach w uprawie ryżu, bawełny, pszenicy, kukurydzy tytoniu oraz innych warzyw i owoców. W tym kraju zarejestrowano również LS94572 oraz LS94573 – środek, którego głównym aktywnym składnikiem jest HBL, wykorzystywany na plantacjach herbaty, trzciny cukrowej, nasion rzepaku oraz tytoniu (Khripach i in. 2000).

Zdolność roślin do kiełkowania jest często ograniczona przez wysoki poziom zanieczyszczenia terenu. Rozwiązaniem tego problemu i jednocześnie sposobem na osiągnięcie lepszych rezultatów w kiełkowaniu roślin, jest zastosowanie brassinosteroidów. Eksperymenty przeprowadzone przez Steber i McCourt (2001) potwierdziły, że brassinosteroidy znacząco stymulowały embriogenezę i kiełkowanie nasion u *Arabidopsis*, przerywały spoczynek bezwzględny wywołany obecnością inhibitorów, takich jak kwas abscysynowy czy związki fenolowe. Fitohormony te stymulowały również kiełkowanie nasion ryżu, pomidora, pszenicy, tytoniu, eukaliptusa kamedulskiego oraz pieprzycy siewnej (Hayat i in. 2010).

Brassinosteroidy, oprócz istotnego wpływu na przebieg procesów fizjologicznych w roślinach, wykazują również działanie ochronne przed niekorzystnymi warunkami środowiska, między innymi: suszą, zasoleniem, zbyt niskimi lub wysokimi temperaturami, zranieniem, niedoborem składników odżywczych, wysokim stężeniem metali ciężkich oraz patogenami. Zastosowanie wysokoaktywnych hormonów steroidowych u roślin narażonych na warunki stresowe przejawia się wpływem na ekspresję genów, syntezę odpowiednich białek, zwiększeniem aktywności sytemu antyoksydacyjnego, wzmożoną akumulacją osmoprotektantów czy zwiększeniem natężenia fotosyntezy (Divi, Krishna 2009a, b). Badania przeprowa-

dzone przez Anuradha i Rao (2009) potwierdziły, iż aplikacja EBL do nasion rzodkwi spowodowała zmniejszenie toksycznego wpływu kadmu na wzrost roślin, fotosyntezę oraz aktywność antyoksydantów. Rady (2011) wykazał, że EBL zwiększał aktywność enzymów antyoksydacyjnych oraz poziom proliny w fasoli poddanej działaniu kadmu oraz wysokiemu stężeniu jonów NaCl. Ponadto, EBL wpływał na zwiększenie biomasy oraz przyspieszał wzrost mikroalgi *Spirulina platensis* w warunkach stresu solnego (Saygideger, Deniz 2008). Namaczanie nasion kapusty sitowatej roztworem HBL w warunkach stresu wywołanego nadmiarem cynku w środowisku, aktywowało system antyoksydacyjny i powstawanie systemu korzeniowego, oraz zwiększało biomasę (Sharma i in. 2007). Ponadto, Yusuf i in. (2011) potwierdzili, iż zastosowanie HBL w hodowli kapusty sitowatej narażonej na toksyczne działanie niklu stymulowało kiełkowanie nasion oraz wydłużenie pędów i korzeni. Brassinosteroidy zwiększały tolerancję owoców mango na stres wywołany niską temperaturą poprzez wpływ na syntezę białek oraz lipidów błony komórkowej. Brassinolid zwiększał odporność mango na chłód poprzez obniżenie transpiracji oraz zawartości dialdehydu malonowego (Li i in. 2012).

Brassinosteroidy wykazują zdolność regulacji pobierania jonów przez komórki roślinne. Proces ten można wykorzystać nie tylko w rolnictwie, ale również w ochronie środowiska, np. w procesie fitostabilizacji skażonej gleby, gdyż brassinosteroidy skutecznie ograniczają transport metali ciężkich i pierwiastków promieniotwórczych (Barbafieri, Tassi 2011). Badania Fariduddina i in. (2009) wskazują, że opryskiwanie brassinosteroidami kapusty sitowatej, pomidora, rzodkwi oraz jęczmienia skutkowało zmniejszeniem akumulacji metali ciężkich, takich jak: kadm, miedź, ołów i cynk. Doświadczenia przeprowadzone na *Chlorella vulgaris*, potwierdziły, że EBL skutecznie hamował akumulację wyżej wymienionych metali w komórkach zielenic. Zaobserwowano, że EBL w roślinach narażonych na obecność ołowiu przyspieszył syntezę fitochelatyn, związków unieszkodliwiających jony metali ciężkich. Mechanizm zaangażowany w zmniejszanie toksyczności ksenobiotyków, regulowany przez fitohormony, opiera się, między innymi, na chelatacji jonów metali ciężkich przez ligandy, takie jak: kwasy organiczne, aminokwasy, peptydy i polipeptydy (Bajguz 2002).

Badania Xia i in. (2006, 2009a, b) wskazują, że brassinosteroidy są przyjaznymi dla środowiska, naturalnymi substancjami zmniejszającymi ryzyko narażenia ludzi i środowiska na działanie pestycydów. Traktując ogórek siewny środkiem owadobójczym o nazwie chloropiryfos oraz EBL, zaobserwowano znaczący spadek toksyczności pestycydu oraz mniejszą ilość w roślinach. Ponadto egzogennie stosowany EBL zmniejszał toksyczny wpływ herbicydów, fungicydów oraz środków owadobójczych stosowanych w uprawie ogórka siewnego, a także ograniczał

uszkodzenia wywołane przez butachlor czy simazynę wykorzystywanych na plantacjach ryżu (Bajguz, Hayat 2009). Brassinosteroidy, szczególnie EBL, przyspieszają proces degradacji fungicydów i środków owadobójczych poprzez wzmożenie ekspresji genów odpowiadających za ich detoksykację. Rośliny traktowane tymi związkami mogą reagować na obecność w środowisku innych związków organicznych, np. polichlorowanych bifenyli czy WWA, które ulegają szybszemu procesowi degradacji. Może być to wykorzystane w fitoremediacji zanieczyszczeń organicznych (Xia i in., 2006, 2009a, b).

4. Ograniczenia stosowania brassinosteroidów w rolnictwie i ochronie środowiska

Jednym z ograniczeń praktycznego stosowania brassinosteroidów na dużą skalę jest mała ilość doświadczeń prowadzonych w terenie, w warunkach rzeczywistego wzrostu roślin. Większość eksperymentów dotyczących roślin uprawnych prowadzona była w stabilnych warunkach laboratoryjnych. Wiele naturalnie występujących brassinosteroidów oraz ich syntetycznych analogów wykazywała wysoką aktywność w testach laboratoryjnych, natomiast nie wpływała znacząco na wzrost i rozwój roślin występujących w środowisku naturalnym (Hola i in. 2010). Związane jest to z faktem, iż wiele czynników wpływa na efektywność stosowania brassinosteroidów, są to między innymi: gatunek rośliny oraz jej stadium rozwojowe, budowa chemiczna zastosowanego związku, stężenie brassinosteroidów, czas trwania, częstotliwość oraz metoda aplikacji. W związku z tym należy prowadzić dalsze badania mające na celu określenie najbardziej aktywnych przedstawicieli brassinosteroidów w odniesieniu do konkretnych gatunków roślin, ustalenie, na jakim etapie wzrostu roślin dokonać stymulacji fitohormonami oraz zastosować najbardziej skuteczne metody aplikacji (Hola i in. 2010; Ali 2017).

Pomimo, iż brassinosteroidy są łatwo metabolizowane przez rośliny, co potwierdzają badania przeprowadzone na pomidorach czy seradeli (Adam, Schneider 1999; Schneider 2002), oraz są zalecane jako ekologicznie bezpieczne stymulatory wzrostu i rozwoju roślin, są kosztowne i często nieosiągalne przez rolników z krajów rozwijających się. W celu zmniejszenia kosztów syntezy naturalnie występujących brassinosteroidów oraz zwiększenia ich systematycznego stosowania, naukowcy pracują nad syntezą chemicznych analogów. Dotychczas udało się wytworzyć syntetyczne analogi brassinosteroidów: DI-100, MH5, BB6 oraz DI-31 charakteryzujące się obecnością spiroketalowego zamiast alifatycznego łańcucha boczne-

go. Okazało się, że ich aktywność biologiczna jest zbliżona do naturalnie występujących brassinosteroidów (Zullo, Adam 2002; Bajguz, Tretyn 2003a).

W związku z możliwością praktycznego zastosowania brassinosteroidów zbadano ich toksyczny wpływ na zwierzęta. Stwierdzono, że toksyczność ostra (A-LD_{50}) EBL, podawanego drogą doustną szczurom i myszom, wynosi odpowiednio 2000 i 1000 mg na kilogram masy ciała tych zwierząt. Podobny wynik uzyskano po zastosowaniu EBL bezpośrednio na skórę szczura. Dodatkowo, eksperymenty przeprowadzone na króliku potwierdziły, iż 0,01% roztwór EBL nie wywołuje podrażnienia oczu i jest toksyczny dla karpia dopiero w stężeniu przekraczającym 10 mg/l. Powyższe przykłady potwierdzają brak negatywnego oddziaływania brassinosteroidów na ssaki czy ryby (Bajguz, Tretyn 2003a).

5. Podsumowanie

Brassinosteroidy, wysokoaktywne, steroidowe hormony roślinne, ze względu na szereg właściwości, którymi się charakteryzują, stanowią ogromną szansę dla rozwoju rolnictwa i ochrony środowiska. Wpływają na podnoszenie zdolności roślin do kiełkowania, wzrost ilości i jakości plonów, zwiększenie tolerancji roślin na stres, oraz ograniczają działanie toksycznych związków organicznych i nieorganicznych na ludzi i środowisko. Aby uzyskać oczekiwane rezultaty, niezbędna jest kontynuacja badań mająca na celu określenie wpływu egzogennie stosowanych naturalnych brassinosteroidów oraz ich syntetycznych analogów prowadzona w warunkach polowych. Praktyczne wykorzystanie brassinosteroidów w rolnictwie i ochronie środowiska może skutkować uzyskaniem lepszych efektów, w krótszym czasie, przy niskich nakładach finansowych oraz bez skutków ubocznych dla innych organizmów żywych.

Literatura

Adam G., Schneider B. 1999. Uptake, transport and metabolism. [W:] Sakurai A., Yokota T., Clouse S. D. (red.), Brassinosteroids – Steroidal Plant Hormones. Springer, Tokyo, Japan, 113–136.

Ali B. 2017. Practical applications of brassinosteroids in horticulture – some field perspectives. Sci. Hortic., 225: 15–21.

Anuradha S., Rao S. S. R. 2009. Effect of 24-epibrassinolide on the photosynthetic activity of radish plants under cadmium stress. Photosynthetica, 47: 317–320.

Bajguz A. 2002. Brassinosteroids and lead as stimulators of phytochelatins synthesis in *Chlorella vulgaris*. J. Plant Physiol., 159: 321–324.

Bajguz A. 2007. Wpływ brassinosteroidów na kultury glonu *Chlorella vulgaris* poddane działaniu wybranych fitochormonów i czynników stresowych. Wyd. Uniwersytetu w Białymstoku, Białystok.

Bajguz A. 2011. Brassinosteroids – occurrence and chemical structures in plants. [W:] Hayat S., Ahmad A. (red.), Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone. Springer, Dordrecht, 1–29.

Bajguz A., Hayat S. 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. Plant Physiol. Biochem., 47: 1–8.

Bajguz A., Tretyn A. 2003a. Brassinosteroidy – hormony roślinne. Wyd. Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń.

Bajguz A., Tretyn A. 2003b. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. Phytochemistry, 62: 1027–1046.

Barbafieri M., Tassi E. 2011. Brassinosteroids for phytoremediation application. [W:] Hayat S., Ahmad A. (red.), Brassinosteroids: a class of plant hormone. Springer Science + Bussiness Media B.V., Dordrecht, 403–437.

Davies P. J. 2004. Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action. Kluwer Acad. Publ., Dordrecht.

Divi U. K., Krishna P. 2009a. Brassinosteroids confer stress tolerance. [W:] Hirt H. (red.), Plant stress biology. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 119–135.

Divi U. K., Krishna P. 2009b. Brassinosteroids: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance. New Biotechnol., 26: 131–136.

Fariduddin Q., Yusuf M., Hayat S., Ahmad A. 2009. Effect of 28-homobrassinolide on antioxidant capacity and photosynthesis in *Brassica juncea* plants exposed to different levels of copper. Environ. Exp. Bot., 66: 418–424.

Hayat S., Mori M., Fariduddin Q., Bajguz A., Ahmad A. 2010. Physiological role of brassinosteroids: an update. Indian J. Plant Physiol., 15: 99–109.

Hola D., Rothova O., Kocova M., Kohout L., Kvasnic M., 2010. The effect of brassinosteroids on the morphology, development and yield of field-grown maize. Plant Growth Regul., 61: 29–43.

Janeczko A. 2005. Brassinosteroidy w rolnictwie, ogrodnictwie i kulturach *in vitro*. Kosmos, 54: 259–265.

Jankiewicz L. S. 1997. Regulatory wzrostu i rozwoju roślin, t. 2. Zastosowanie w ogrodnictwie, rolnictwie, leśnictwie i w kulturach tkanek. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.

Khripach V. A., Zhabinskii V. N., de Groot A. E. 2000. Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. Ann. Bot., 86: 441–447.

Kanwar M. K., Bajguz A., Zhou J., Bhardwaj R. 2017. Analysis of brassinosteroids in plants. J. Plant Growth Regul., DOI 10.1007/s00344-017-9732-4.

Li B., Zhang C., Cao B., Qin G., Wang W., Tian S. 2012. Brassinolide enhances cold stress tolerance of fruit by regulating plasma membrane proteins and lipids. Amino Acids, 43: 2469–2480.

Rady M. M. 2011. Effect of 24-epibrassinolide on growth, yield, antioxidant system and cadmium content of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants under salinity and cadmium stress. Sci. Hortic., 129: 232–237.

Saygideger S., Deniz F. 2008. Effect of 24-epibrassinolide on biomass, growth and free proline concentration in *Spirulina platensis* (*Cyanophyta*) under NaCl stress. Plant Growth Regul., 56: 219–223.

Schneider B. 2002. Pathways and enzymes of brassinosteroid biosynthesis. [W:] Esser K., Lüttge U., Beyschlag W., Hellwig F. (red.), Progress in Botany. Springer, Berlin-Heidelberg, Germany, 63: 286–306.

Sharma P., Bhardwaj R., Arora N., Arora H. K. 2007. Effect of 28-homobrassinolide on growth, zinc metal uptake and antioxidative enzyme activities in *Brassica juncea* L. seedlings. Braz. J. Plant Physiol., 19: 203–210.

Steber C. M., McCourt P. A. 2001. A role for brassinosteroids in germination in *Arabidopsis.* Plant Physiol., 125: 763–769.

Susila T., Reddy S. A., Rajkumar M., Padmaja G., Rao P. V. 2012. Effects of sowing date and spraying of brassinosteroid on yield and fruit quality characters of watermelon. World J. Agric. Sci., 8: 223–228.

Xia X. J., Huang Y. Y., Wang L., Huang L. F., Yu Y. L., Zhou Y. H., Yu J. Q. 2006. Pesticides induced depression of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in *Cucumis sativus* L. Pest. Biochem. Physiol., 86: 42–48.

Xia X. J., Zhang Y., Wu X. J., Wang T. J., Zhou Y. H., Shi W., Yu Y. L., Yu J. Q. 2009a. Brassinosteroids promote metabolism of pesticides in cucumber. J. Agric. Food Chem., 57: 8406–8413.

Xia X. J., Wang Y. J., Zhou Y. H., Tao Y., Mao W. H., Shi K., Asami T., Chen Z., Yu J. Q. 2009b. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroids-induced stress tolerance in *Cucumis sativus*. Plant Physiol., 150: 801–814.

Yusuf M., Fariduddin Q., Ahmad A. 2011. 28-Homobrassinolide mitigates boron induced toxicity through enhanced antioxidant system in *Vigna radiata* plants. Chemosphere, 85: 1574–1584.

Zullo M. A. T., Adam G. 2002. Brassinosteroid phytohormones – structure, bioactivity and applications. Braz. J. Plant Physiol., 14: 143–181.