

Załącznik nr 2

**AUTOREFERAT
DOTYCZĄCY DZIAŁALNOŚCI
NAUKOWO - BADAWCZEJ**

Dr Barbara Agnieszka Hawrylak-Nowak

Katedra Fizjologii Roślin

Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin 2016

Dr Barbara Agnieszka Hawrylak-Nowak

Katedra Fizjologii Roślin

Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin

email: bhawrylak@yahoo.com

I. IMIĘ I NAZWISKO: Barbara Agnieszka Hawrylak-Nowak

II. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE:

- **2004 r. – stopień doktora nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwa, specjalność: fizjologia roślin** uzyskałam na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Fizjologiczna aktywność różnych form selenu w roślinach determinowana pH środowiska odżywczego”, wykonanej w Katedrze Fizjologii Roślin Wydziału Ogrodniczego Akademii Rolniczej w Lublinie; promotor: *prof. dr hab. Maria Szymańska*
- **2002 r. – tytuł magistra biotechnologii** uzyskałam na podstawie pracy magisterskiej pt.: „Charakterystyka oraz oczyszczanie inwertazy i trehalazy z lucerny siewnej *Medicago sativa*”, wykonanej Zakładzie Biologii Molekularnej, Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie; promotor: *dr Barbara Wolska-Mitaszko*
- **2000 r. – tytuł magistra biologii, specjalność: biologia środowiskowa** uzyskałam na podstawie pracy magisterskiej pt.: „Wrażliwość na kadm dzikiego typu *Arabidopsis thaliana* L. (Heynh.) – wpływ na wzrost i wewnątrzkomórkową detoksykację kadmu”, wykonanej w Zakładzie Fizjologii Roślin Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie; promotor: *prof. dr hab. Anna Tukiendorf*

III. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH:

- **Adiunkt** (1 październik 2005 – do chwili obecnej) – Katedra Fizjologii Roślin, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
- **Asystent** (1 październik 2004 – 30 wrzesień 2005) – Katedra Fizjologii Roślin, Wydział Ogrodniczy (obecnie Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu), Akademia Rolnicza w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie)

IV. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego:

Osiągnięciem, stanowiącym podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego, jest cykl siedmiu oryginalnych prac eksperymentalnych, ujętych pod wspólnym tytułem: „**Badania nad wzbogacaniem ogórka i sałaty w selen w aspekcie tolerancji tych gatunków na wybrane stresy abiotyczne**”.

b) publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

O1. Hawrylak B. 2007. Fizjologiczna reakcja ogórka na stres zasolenia w obecności selenu. Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu CCCLXXXIII, Ogrodnictwo 41: 483-486 (2 pkt. MNiSW^{*}, obecnie: Nauka Przyroda Technologie 9 pkt. MNiSW^{**})

O2. Hawrylak B., Matraszek R., Szymańska M. 2007. Response of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to selenium in nutrient solution contaminated with nickel. Vegetable Crops Research Bulletin 67: 63-70 (6 pkt. MNiSW^{*}, obecnie Journal of Horticultural Research 14 pkt. MNiSW^{**})

O3. Hawrylak-Nowak B. 2009. Beneficial effects of exogenous selenium in cucumber seedlings subjected to salt stress. Biological Trace Element Research 132(1-3): 259-269 (IF₂₀₀₉ = 1,127; 10 pkt. MNiSW^{*}, 15 pkt. MNiSW^{**}; liczba cytowań: Scopus = 43, WoS = 38)

O4. Matraszek R., Hawrylak-Nowak B. 2009. Macronutrients accumulation in useable parts of lettuce as affected by nickel and selenium concentrations in nutrient solution. Fresenius Environmental Bulletin 18(7): 1059-1065 (IF₂₀₀₉ = 0,531; 10 pkt. MNiSW^{*}, 15 pkt. MNiSW^{**}; liczba cytowań: Scopus = 3, WoS = 3)

O5. Hawrylak-Nowak B., Matraszek R., Szymańska M. 2010. Selenium modifies the effect of short-term chilling stress on cucumber plants. Biological Trace Element Research 138:

307–315 (IF₂₀₁₀ = 1,523; 13 pkt. MNiSW^{*}, 15 pkt. MNiSW^{**}; liczba cytowań: Scopus = 26, WoS = 24)

O6. Hawrylak-Nowak B., Dresler S., Wójcik M. 2014. Selenium affects physiological parameters and phytochelatins accumulation in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants grown under cadmium exposure. *Scientia Horticulturae* 172: 10-18 (IF₂₀₁₄ = 1,365; 35 pkt. MNiSW^{*}, 35 pkt. MNiSW^{**}; liczba cytowań: Scopus = 10, WoS = 8)

O7. Hawrylak-Nowak B. 2015. Selenite is more efficient than selenate in alleviation of salt stress in lettuce plants. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 57(2): 49-54 (IF_{5-letni} = 1,044; 20 pkt. MNiSW^{*}, 20 pkt. MNiSW^{**}; liczba cytowań: Scopus = 0, WoS = 0)

Łącznie dla ww. cyklu publikacji:

Sumaryczna ilość punktów MNiSW – 96^{*} (123^{**})

Impact Factor (IF) – 5,590

Liczba cytowań – Scopus = 82, WoS = 73

^{*} wg załączników do komunikatu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego za odpowiedni rok (wg roku opublikowania)

^{**} wg komunikatu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 23 grudnia 2015 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikacje w tych czasopismach
Impact Factor (IF) - zgodnie z rokiem opublikowania (w przypadku publikacji z 2015 roku podano 5-letni IF)

We wszystkich publikacjach, które wchodziły w skład osiągnięcia naukowego, byłam autorką koncepcji badań, a także głównym wykonawcą doświadczeń wegetacyjnych i analiz laboratoryjnych (zgodnie z **Załącznikiem nr 6**). Oświadczenia współautorów prac, szczególnie określające ich indywidualny wkład w powstanie tych prac zamieszczone są w **Załączniku nr 5**.

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

W latach 2006-2015 prowadziłam prace badawcze dotyczące wpływu wzbogacania ogórka i sałaty w selen na tolerancję tych gatunków na wybrane stresy abiotyczne. Część z tych badań została zrealizowana w ramach projektu badawczego własnego pt. „Biofortyfikacja wybranych warzyw w selen w aspekcie wzrostu ich odporności na zasolenie lub metale

ciężkie” (N N310 430939). Uzyskane wyniki opracowałam i opublikowałam w postaci cyklu siedmiu oryginalnych prac naukowych (**O.1-O.7**), które uważam za swoje najważniejsze osiągnięcie w dotychczasowej działalności naukowej i przedkładałam jako podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Wprowadzenie

W dobie zmian klimatycznych oraz gwałtownego wzrostu zapotrzebowania na żywność istnieje realny problem związany z zapewnieniem tzw. bezpieczeństwa żywnościowego. Ekstremalne zjawiska klimatyczne oraz nasilona antropopresja wywierają niekorzystny wpływ na produkcję żywności i w rezultacie powodują postępujący wzrost jej cen. Jednak jak dotąd nie znaleziono uniwersalnego rozwiązania, które pozwalałoby na skuteczną eliminację tych problemów. Istnieje wiele sposobów radzenia sobie z niekorzystnym skutkami zmian klimatu i wzrastającym zanieczyszczeniem środowiska dla zapewnienia trwałego bezpieczeństwa żywnościowego. Jednym z istotnych podejść jest tzw. “rolnictwo przyjazne klimatowi” (‘climate-smart agriculture’), to znaczy takie dostosowanie praktyk rolniczych, aby uczynić produkcję rolniczą bardziej odporną na konsekwencje zmian klimatycznych, przy jednoczesnym zmniejszeniu negatywnego wpływu rolnictwa na środowisko, w tym właśnie na klimat (Campbell i in. 2014).

Zmienność warunków środowiskowych oraz osiadły tryb życia roślin sprawiają, że są one organizmami szczególnie narażonymi na działanie czynników stresowych. Z tego też względu, podwyższenie tolerancji roślin uprawnych na stresy abiotyczne jest niezbędnym warunkiem zaspokojenia potrzeb żywnościowych rosnącej populacji ludności. To bardzo trudne zadanie wymaga żmudnych, multidyscyplinarnych badań, w tym prac specjalistów zajmujących się tzw. fizjologią stresu, którzy analizują mechanizmy tolerancji roślin na różnego rodzaju abiotyczne i biotyczne niekorzystne czynniki środowiskowe w celu opracowania efektywnych metod zapewniających roślinom większą odporność (Mou 2011).

Spośród stresów abiotycznych, nadmierne zasolenie gleb uprawnych, skażenie metalami ciężkimi oraz pojawiające się coraz częściej znaczne wahania temperatury przyczyniają się do spadku plonowania i stanowią jedne z głównych problemów w produkcji roślinnej. Chęć szybkiego uzyskania wysokiego plonu przez stosowanie intensywnego nawożenia mineralnego, szczególnie w uprawach pod osłonami, przyczynia się do przenawożenia gleb, wywołującego w roślinach stres solny. Większość gatunków roślin użytkowych jest wrażliwa nawet na stosunkowo niskie zasolenie podłoża, które powoduje zmniejszenie dostępności

wody, obniżając jej potencjał w roztworze glebowym. Nadmiar jonów, zwłaszcza Na^+ oraz Cl^- , zakłóca homeostazę jonową komórek oraz może wywoływać stres oksydacyjny. Ponadto, obserwowany w ostatnim czasie postępujący globalny wzrost temperatury, przy jednoczesnym obniżeniu ilości opadów prowadzi do zwiększenia udziału obszarów nadmiernie zasolonych wśród gleb uprawnych (Zhu 2001, Kong i in. 2005). Równocześnie nasiloną w ostatnich dziesięcioleciach antropopresja przyczynia się do wzrostu stężenia metalicznych pierwiastków śladowych w środowisku. Podwyższone zawartości metali ciężkich w ekosystemach są następstwem zarówno procesów naturalnych (aktywność wulkaniczna, spontaniczne odkrywki na terenach rudonośnych), jak również działalności antropogenicznej, wynikającej zwłaszcza z procesów wydobywania i przetwórstwa rud metali. Bardzo niebezpieczny jest zarówno trwały charakter tego typu zanieczyszczeń, jak również łatwe ich włączanie się do łańcucha pokarmowego, co w konsekwencji ma także negatywny wpływ na zdrowie ludzi i zwierząt (Kabata-Pendias i Mukherjee 2007, Chibuike i Obiora 2014). Stres termiczny jest jednym z kluczowych czynników abiotycznych determinującym rozmieszczenie geograficzne roślin oraz ograniczającym uprawę wielu użytecznych dla człowieka gatunków. Stres niskotemperaturowy jest szczególnie groźny w skutkach dla gatunków wrażliwych na chłód, a przede wszystkim dla tych, które sprowadzono z ciepłych stref klimatycznych w rejony o klimacie chłodniejszym (Theocharis i in. 2012).

W następstwie oddziaływania ww. stresów abiotycznych obniża się potencjał plonotwórczy roślin, co powoduje duże straty ekonomiczne. Mechanizmy tolerancji czynników stresowych przez rośliny są bardzo złożone oraz wielopłaszczyznowe, co znacznie utrudnia opracowanie skutecznych metod łagodzenia negatywnych skutków stresów na produkcję roślinną. Dlatego też podwyższenie odporności roślin uprawnych na niekorzystne warunki środowiska stanowi jeden z najważniejszych aspektów związanych z możliwością zwiększenia arealu oraz wydajności produkcji roślinnej na wielu obszarach, gdzie uprawa była dotąd znacznie utrudniona lub wręcz niemożliwa. Zadanie to może być realizowane np. w oparciu o zróżnicowane żywienie mineralne, w tym nawożenie roślin pierwiastkami śladowymi (Habibi 2014).

Selen (Se) jest mikroelementem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmów ludzi i zwierząt, a jego deficyt wywołuje szereg zaburzeń i schorzeń, określanych mianem hiposeleneozy. Liczne badania epidemiologiczne potwierdzają, że niedobór selenu w diecie zwiększa częstotliwość występowania chorób sercowo-naczyniowych, prowadzi do zaburzeń w funkcjonowaniu tarczycy, podwyższa ryzyko wystąpienia chorób nowotworowych oraz zaburza funkcjonowanie układów

odpornościowego i nerwowego (Rayman 2000). Główne źródło selenu dla ludzi i zwierząt stanowi pożywienie. W ostatnich latach wzrasta popyt na tzw. żywność funkcjonalną o ukierunkowanym, pożądanym wpływie na organizm ludzki. Wprowadzenie do diety takiej żywności może ograniczać ryzyko wystąpienia niektórych chorób. Jedną z metod pozyskiwania żywności funkcjonalnej jest proces biofortyfikacji (wzbogacania) roślin w łatwo przyswajalne składniki mineralne np. selen (White i Broadley 2009). Chociaż selen nie jest aktualnie zaliczany do pierwiastków niezbędnych dla prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin, jednakże wyniki badań przeprowadzonych w ostatnich latach pozwoliły zaliczyć go do grupy pierwiastków poświadczonych, szczególnie dla roślin akumulujących go w dużych ilościach, czyli tzw. hiperakumulatorów selenu (Kopsell i Kopsell 2007). Podstawę do zaliczenia selenu do pierwiastków poświadczonych stanowiła również stwierdzona pozytywna rola tego pierwiastka w odporności wielu innych gatunków roślin zarówno na stropy abiotyczne (Feng i in. 2013), jak i biotyczne (Mechora i Ugrinović 2015).

Podwyższenie tolerancji roślin użytkowych na niekorzystne czynniki środowiska, będące efektem biofortyfikacji ich biomasy selenem, może przynieść w przyszłości znaczne korzyści ekonomiczne, związane np. z wykorzystaniem obszarów, na których produkcja roślinna z zastosowaniem tradycyjnych metod uprawy jest znacznie utrudniona. Oprócz korzyści wiązanych się ze wzrostem odporności roślin na czynniki stresowe, dodatkowym pozytywnym efektem będzie uzyskanie biomasy roślinnej wzbogaconej selenem. Taka biomasa może być wykorzystana do celów konsumpcyjnych, szczególnie na terenach, gdzie występuje niedobór selenu w diecie, jak np. w Polsce oraz wielu innych krajach Europy (Oldfield 2002).

Cel badań

W prezentowanych badaniach oceniono reakcję ogórka (*Cucumis sativus* L.) odm. Polan F1 oraz sałaty (*Lactuca sativa* L.) odm. Justyna na wzbogacanie podłoża selenem, w aspekcie tolerancji tych gatunków na wybrane stropy abiotyczne, tj. stres solny, nadmiar metali śladowych oraz niską temperaturę. Ogórek i sałata są bardzo rozpowszechnionymi i cenionymi gatunkami warzyw, uprawianymi zarówno w gruncie, jak i pod osłonami (w tym powszechnie w kulturach bezglebowych). Gatunki te wytypowano do badań ze względu na ich popularność wśród konsumentów, areał upraw, jak i zróżnicowaną wrażliwość na stropy abiotyczne. Doświadczenia zostały przeprowadzone w podłożu płynnym (pożywka Hoaglanda), gwarantującym roślinom dużą biodostępność selenu. Pierwiastek ten

wprowadzano do podłoża w formie selenianu (Na_2SeO_4) lub seleninu (Na_2SeO_3). Podjęte badania miały na celu opracowanie podstawowych wytycznych dotyczących możliwości zastosowania selenu w procesie biofortyfikacji roślin tym pierwiastkiem, które to wzbogacenie powodowałoby jednocześnie podwyższoną tolerancję badanych gatunków na czynniki stresowe, z perspektywą zastosowania tej metody w praktyce ogrodniczej.

Omówienie wyników badań

Wpływ selenu na tolerancję ogórka i sałaty na nadmierne zasolenie podłoża

Szacuje się, że w skali światowej, żadna z toksycznych substancji nie ogranicza w sposób tak istotny wzrostu i plonowania roślin jak nadmierne zasolenie podłoża (Aslam i in. 2011). Wyniki badań dotyczących wpływu selenu, jako potencjalnego czynnika mogącego modyfikować tolerancję ogórka oraz sałaty na stres solny, przedstawiono w pracach **O.1**, **O.3** oraz **O.7**. Rezultaty pilotażowych doświadczeń przeprowadzonych na ogórku, zaliczonym do glikofitów o średniej tolerancji na stres solny, opublikowanych w pracy **O.1** były wyjątkowo obiecujące. Wykazano, że pod wpływem zasolenia indukowanego 50 mM NaCl, ulegała redukcji całkowita sucha masa roślin (o około połowę w stosunku do roślin kontrolnych), jak również ulegała zaburzeniu akumulacja barwników fotosyntetycznych (chlorofilu *a*, *b* oraz karotenoidów). Jednak negatywny wpływ stresu solnego był przynajmniej częściowo niwelowany po wprowadzeniu do podłoża 5 lub 10 μM Se w formie selenianu. Analiza wybranych parametrów fizjologiczno-biochemicznych wykazała, że korzystny wpływ selenu na rośliny ogórka rosnące w warunkach nadmiernego zasolenia podłoża wiązał się z ograniczeniem szkodliwego procesu peroksydacji lipidów błon komórkowych oraz wzrostem akumulacji barwników fotosyntetycznych. Dyskusyjna natomiast pozostaje rola proliny w tolerancji stresu solnego przez rośliny ogórka. Wzrost akumulacji wolnej proliny jest jedną z często występujących odpowiedzi roślin na stres osmotyczny, wywołany suszą lub nadmiernym zasoleniem (Kishor i in. 2005). Także w prezentowanych badaniach stwierdzono obniżenie poziomu tego aminokwasu w liściach w warunkach zasolenia, przy czym wykazano również, że wprowadzenie selenu do zasolonego podłoża indukowało akumulację proliny.

Z uwagi na odnotowane korzystne oddziaływanie selenu w warunkach zasolenia, podjęto dalsze, bardziej szczegółowe badania, których wyniki opublikowano w pracy **O.3**. W doświadczeniach tych wykorzystano trzy stężenia selenu: 5, 10 lub 20 μM , aplikowanego do pożywki w formie selenianu, a stres solny indukowano stosując 50 mM NaCl. Otrzymane

wyniki potwierdziły wcześniejsze obserwacje wskazujące, że biofortyfikacja ogórka selenem zwiększa tolerancję tego gatunku na stres solny. Ponadto poznano niektóre mechanizmy zaangażowane w ten proces. Wykazano mianowicie, że obecność selenu w warunkach stresu osmotycznego indukowanego zasoleniem wpływa korzystnie przede wszystkim na wzrost systemu korzeniowego, powodując większy przyrost jego biomasy, co w efekcie przekłada się również na wyższą biomasę pędów w odniesieniu do roślin kontrolnych eksponowanych tylko na NaCl. Jednak pozytywne oddziaływanie selenu na wzrost ogórka zależało od stężenia tego pierwiastka w podłożu i było dużo mniej wyraźne w obecności 20 μM Se, niż pod wpływem 5 czy 10 μM Se. Negatywny wpływ zasolenia wiązał się z nasileniem procesu peroksydacji lipidów, przy czym błony komórkowe korzeni były bardziej narażone na to niekorzystne zjawisko niż błony komórkowe liści. Wprowadzenie selenu do podłoża, podobnie jak w poprzednich badaniach (**O.1**), hamowało peroksydację lipidów błonowych, wyraźniej w komórkach korzeni niż liści. Indukowany selenem wzrost stabilności błon komórkowych w warunkach stresu solnego towarzyszył podwyższonej zawartości barwników fotosyntetycznych. Pośrednio może to wskazywać na stymulowane selenem utrzymanie integralności błon chloroplastów w niekorzystnych warunkach środowiska.

Kolejnym analizowanym aspektem był wpływ selenu na stężenie jonów Na^+ , Cl^- oraz K^+ w tkankach pędów. Wykazano, że suplementacja zasolonego podłoża selenem w stężeniach 5 lub 10 μM , ograniczała akumulację jonów Cl^- w aktywnych fotosyntetycznie tkankach części nadziemnych, a jednocześnie nie wpływała w istotny sposób na zawartość jonów Na^+ . Ponadto, występujący powszechnie antagonizm pomiędzy jonami Na^+ oraz K^+ , uznany za jedną z przyczyn zaburzeń w gospodarce jonowej roślin rosnących w warunkach stresu solnego (Zhu 2001), stwierdzono również w niniejszych badaniach, w których ekspozycja ogórka na NaCl wywoływała istotne obniżenie zawartości K^+ w pędach. Wprowadzenie selenu do zasolonego podłoża nie wpływało jednak w istotny sposób na ograniczenie tego zjawiska, a stosunek K^+/Na^+ utrzymywał się na podobnym poziomie w roślinach traktowanych tylko NaCl, jak i dodatkowo wzbogaconych selenem. Podobnie jak w poprzednich badaniach (**O.1**), ogórek rosnący w obecności NaCl nie gromadził wyraźnie większych ilości wolnej proliny w stosunku do roślin kontrolnych. Natomiast wzbogacenie zasolonego podłoża w 5 lub 10 μM Se wpływało na wzrost stężenia tego aminokwasu w liściach, w porównaniu do roślin traktowanych tylko NaCl. Zjawisko to, w połączeniu ze stymulacją wzrostu roślin, podwyższonym poziomem barwników fotosyntetycznych oraz obniżeniem procesu peroksydacji lipidów może w sposób pośredni wskazywać na korzystną rolę wolnej proliny w tolerancji zasolenia.

W kolejnych badaniach porównano efektywność dwóch nieorganicznych form selenu (selenian i selenin) zastosowanych w stężeniach 2 lub 6 μM w łagodzeniu skutków stresu solnego indukowanego przez 40 mM NaCl. Obiektem badań była sałata, która podobnie jak ogórek, należy do glikofitów średnio wrażliwych na zasolenie. Zastosowane stężenia NaCl i selenu dobrano na podstawie wcześniejszych, pilotażowych doświadczeń przeprowadzonych na tym gatunku. Uzyskane wyniki zostały przedstawione w pracy **O.7**. Wykazano, że zastosowany poziom zasolenia wpływał negatywnie na wzrost sałaty, przy czym spadek świeżej masy części nadziemnych był wyższy niż redukcja biomasy systemu korzeniowego. W warunkach stresu solnego nie odnotowano natomiast, w odróżnieniu od ogórka (**O.1**, **O.3**), zaburzeń akumulacji barwników fotosyntetycznych. Wprowadzenie do zasolonego podłoża 2 lub 6 μM Se w formie seleninu stymulowało wzrost systemu korzeniowego, którego biomasa była odpowiednio o 69 i 37% większa w odniesieniu do roślin rosnących w obecności tylko 40 mM NaCl. Również świeża masa części nadziemnych wzrosła pod wpływem seleninu, ale tylko po zastosowaniu 2 μM Se w tej formie chemicznej. Wzbogacenie zasolonego podłoża selenem w formie selenianu nie wywoływało tak wyraźnie pozytywnych efektów jak w formie seleninu. Wprawdzie w obecności 2 μM selenianu odnotowano istotny wzrost biomasy roślin, ale dotyczył on tylko systemu korzeniowego. Natomiast wzrost stężenia selenianu do 6 μM nie stymulował wzrostu ani części nadziemnych, ani korzeni. Powyższe rezultaty sugerują, że korzystny wpływ selenu na sałatę rosnącą w warunkach stresu solnego związany jest głównie ze stymulacją wzrostu systemu korzeniowego. Wykazano także, że selenin był bardziej skuteczny niż selenian w łagodzeniu skutków nadmiernego zasolenia podłoża.

Analizując mechanizmy związane z oddziaływaniem selenu w warunkach zasolenia stwierdzono, że u sałaty, analogicznie jak u ogórka, pozytywny wpływ tego pierwiastka związany był z jego oddziaływaniem antyoksydacyjnym. Porównując aktywność antyoksydacyjną badanych form selenu odnotowano, że jedynie po wprowadzeniu do zasolonego podłoża 2 μM Se w formie seleninu, w tkankach korzeni doszło do obniżenia stężenia zarówno szkodliwych produktów peroksydacji lipidów, jak i nadtlenku wodoru (H_2O_2). Natomiast w obecności obu zastosowanych stężeń selenianu odnotowano redukcję poziomu peroksydacji lipidów w tkankach liści, bez istotnego obniżenia akumulacji H_2O_2 w badanych organach. Wyniki te częściowo mogą tłumaczyć tak wysoką efektywność seleninu stosowanego w stężeniu 2 μM w łagodzeniu skutków stresu solnego. W eksponowanej na NaCl sałacie, odmiennie niż w przypadku ogórka, nie stwierdzono wpływu selenu na akumulację jonów Cl^- w częściach nadziemnych, jak również nie

odnotowano istotnych wahań poziomu proliny. Z drugiej jednak strony, w obecności 6 μM Se w formie seleninu oraz 2 μM Se w formie selenianu wykazano istotne obniżenie stężenia jonów K^+ w tkankach pędów, co jest pierwszym udokumentowanym przypadkiem indukowanej selenem redukcji zawartości tego makroelementu w roślinach rosnących w warunkach zasolenia. Pod wpływem selenu wzrastało natomiast stężenie barwników fotosyntetycznych, jednak tylko po aplikacji seleninu. Zjawisko to może dodatkowo uzasadniać wyższą skuteczność seleninu w porównaniu z selenianem w niwelowaniu niekorzystnych następstw stresu solnego w roślinach sałaty.

Odnotowany korzystny wpływ niskich stężeń selenu na wzrost oraz wybrane parametry fizjologiczne ogórka i sałaty, sugeruje możliwość wykorzystania tego pierwiastka jako czynnika potencjalnie podnoszącego odporność roślin użytkowych na stres solny, który stanowi poważny problem globalny i dotyczy coraz większego areалу gleb uprawnych w warunkach dynamicznie zmieniającego się w ostatnich dziesięcioleciach klimatu.

Wpływ selenu na tolerancję ogórka i sałaty na metale śladowe (kadm i nikiel)

Fitotoksyczność metali może być uzależniona od obecności w podłożu innych pierwiastków przy czym, w zależności od ich stężenia oraz formy chemicznej, mogą one wywierać korzystny lub negatywny wpływ na rośliny (Kabata-Pendias i Mukherjee 2007). Oddziaływanie selenu jako czynnika modyfikującego reakcję ogórka oraz sałaty na stres wynikający z podwyższonego poziomu metali śladowych w podłożu zaprezentowano w pracach **O.2**, **O.4** oraz **O.6**. W przeprowadzonych doświadczeniach analizowano m.in. wpływ selenu w formie seleninu na reakcję sałaty na stres wywołany obecnością niklu (**O.2**, **O.4**). W badaniach opublikowanych w pracy **O.2** wykazano, że wprowadzenie do podłoża 50 μM Ni wywoływało obniżenie biomasy części użytkowych sałaty oraz redukcję stężenia barwników fotosyntetycznych (szczególnie chlorofilu *a*). Natomiast aplikacja 5 μM Se do skażonego niklem podłoża wpływała pozytywnie na rośliny, stymulując wzrost części nadziemnych oraz zwiększając akumulację barwników fotosyntetycznych (zwłaszcza chlorofilu *a* i karotenoidów), a w konsekwencji przynajmniej częściowo niwelując fitotoksyczne oddziaływanie tego metalu. Selen aplikowany do pożywki w stężeniu 20 μM nie wykazywał korzystnego oddziaływania na plonowanie i zawartość barwników fotosyntetycznych w skażonej niklem sałacie. Z drugiej jednak strony, wprowadzenie 5 μM Se do podłoża zawierającego nikiel wpływało na wzrost zawartości tego metalu w częściach użytkowych, w stosunku do roślin uprawianych tylko w obecności niklu. Podobnej zależności nie

odnotowano pod wpływem 20 μM Se. Wykazano także, że nikiel powodował wzrost zawartości selenu w częściach nadziemnych, ale tylko w przypadku niższego z zastosowanych stężeń (5 μM Se). Ponadto, w roślinach traktowanych niklem odnotowano zwiększenie zawartości siarki siarczanowej (S-SO₄) pod wpływem 5 μM Se, oraz wykazano obniżenie jej poziomu po aplikacji 20 μM Se, w porównaniu do roślin rosnących tylko w obecności niklu. Wzrost akumulacji S-SO₄ pod wpływem selenu stwierdzono również w roślinach nie eksponowanych na nikiel. Wahania poziomu S-SO₄, związane z obecnością selenu w podłożu, związane są prawdopodobnie z podobnymi mechanizmami asymilacji obu pierwiastków (Terry i in. 2000). Natomiast zawartość siarki całkowitej w roślinach skażonych niklem nie ulegała istotnym wahaniom pod wpływem selenu. Z badań tych wynika, że selen w stężeniu 5 μM aplikowany do podłoża zawierającego 50 μM Ni może łagodzić skutki stresu związanego z nadmiarem tego metalu, jednak pozytywny wpływ selenu nie był związany z ograniczeniem pobierania i translokacji niklu do części użytkowych sałaty.

Dlatego, w kolejnym etapie badań oceniono wpływ selenu na produktywność oraz stan zaopatrzenia w makroelementy części użytkowych sałaty skażonej niklem (**O.4**). W doświadczeniach tych nikiel zastosowano w stężeniach 50 lub 100 μM , natomiast stężenia i forma chemiczna selenu były analogiczne jak w poprzednich badaniach (5 lub 20 μM Se, selenin). Wykazano, że wpływ badanych pierwiastków śladowych na wzrost roślin oraz bioakumulację makroelementów uzależniony był od wzajemnej proporcji niklu i selenu w środowisku wzrostu. Zarówno selen, jak i nikiel aplikowane indywidualnie wywoływały obniżenie biomasy oraz redukcję akumulacji makroelementów w częściach nadziemnych. Korzystne oddziaływanie selenu na przyrost suchej masy wykazano po wprowadzeniu 5 μM Se do podłoża zawierającego nikiel, niezależnie od stężenia tego metalu. Natomiast wyższe stężenie selenu (20 μM) stymulowało przyrost biomasy tylko w warunkach wyższego stężenia niklu (100 μM). Wprowadzenie 5 μM Se do podłoża zawierającego nikiel (niezależnie od stężenia metalu) wpływało na wzrost akumulacji makroelementów w częściach użytkowych sałaty, w porównaniu do roślin traktowanych tylko niklem. Wzrost stężenia selenu do 20 μM wywierał niekorzystny wpływ na poziom makroskładników w sałacie rosnącej w obecności 50 μM Ni, pogłębiając na ogół obniżenie ich bioakumulacji. W tych warunkach jedynie akumulacja fosforu była znacznie wyższa niż w roślinach nie wzbogaconych selenem. Wprowadzenie 20 μM Se do środowiska zawierającego 100 μM Ni nie wpływało w istotny sposób na akumulację makroelementów w odniesieniu do roślin rosnących tylko w obecności 100 μM Ni, za wyjątkiem wzrostu akumulacji siarki całkowitej. Podobnie jak w poprzednich badaniach (**O.2**), zawartość niklu w sałacie traktowanej

50 μM Ni i wzbogaconej 5 μM Se była wyższa niż w roślinach rosnących tylko w obecności 50 μM Ni. Jednak w warunkach wyższego stężenia tego metalu w podłożu (100 μM Ni), dodatkowa aplikacja seleniu, niezależnie od jego stężenia, wpływała na redukcję zawartości niklu w suchej masie części nadziemnych. Tak więc pozytywny wpływ seleniu zastosowanego w stężeniu 5 μM na skażoną niklem sałatę może, przynajmniej częściowo, wynikać z oddziaływania seleniu na gospodarkę mineralną oraz wiązać się ze wzrostem bioakumulacji makroelementów, poprawiając status zaopatrzenia roślin w te pierwiastki. Niemniej jednak wpływ seleniu na pobieranie i translokację niklu w roślinach nie jest do końca jednoznaczny, gdyż przy niższym stężeniu metalu (50 μM Ni) obecność seleniu powodowała wzrost (5 μM Se) lub nie wywierała istotnego wpływu (20 μM Se) na zawartość niklu, natomiast w warunkach wyższego stężenia niklu (100 μM), wprowadzenie seleniu wpływało na znaczne ograniczenie zawartości tego metalu w organach nadziemnych.

W badaniach dotyczących wpływu seleniu (5 lub 10 μM w formie selenianu) na toksyczność kadmu (25 lub 50 μM) w roślinach ogórka (**O.6**) wykazano, że selen może modyfikować reakcję tego gatunku na kadm, jednak bardzo istotną rolę również w tym przypadku odgrywa wzajemna proporcja pomiędzy stężeniami tych pierwiastków w podłożu. Spośród zastosowanych stężeń seleniu, jedynie aplikacja 10 μM Se do podłoża zawierającego 50 μM Cd wpływała pozytywnie na wzrost systemu korzeniowego oraz niektóre parametry fizjologiczne roślin. Wprowadzenie seleniu do podłoża skażonego kadmem niwelowało skutki stresu oksydacyjnego, czego przejawem było obniżenie stopnia peroksydacji lipidów, jak również zwiększało stabilność błon komórkowych tkanek liści, szczególnie w roślinach rosnących w obecności wyższego stężenia tego metalu (50 μM Cd). Nie odnotowano natomiast wpływu seleniu na poziom zredukowanego glutationu (GSH) – tripeptydu o właściwościach antyoksydacyjnych, którego stężenie w komórkach było zależne wyłącznie od obecności kadmu, przy czym spadało pod jego wpływem w korzeniach i wzrastało w liściach. Ponadto, w badaniach tych po raz pierwszy wykazano, że obecność seleniu w podłożu zawierającym kadm wpływała na obniżenie akumulacji fitochelatyn (PC). Wiązanie jonów kadmu z PC w cytoplazmie i późniejsza kompartmentacja dużo mniej toksycznych kompleksów PC-Cd w wakuoli stanowi jedną z „pierwszych linii” obrony roślin przed toksycznym oddziaływaniem tego metalu (Inouhe 2005). Obniżenie poziomu PC w obecności seleniu mogło być spowodowane podstawieniem seleniu w miejsce siarki w grupach funkcyjnych cysteiny, a zastąpienie cysteiny selenocysteiną, np. w centrum katalitycznym syntazy fitochelatynowej, mogło wpływać na zahamowanie syntezy PC. W badaniach tych, oprócz analizy parametrów biometrycznych oraz fizjologiczno-

biochemicznych, dokonano także oceny wpływu selenu na zawartość kadmu i *vice versa*. Wykazano, że aplikacja selenu powodowała istotną redukcję stężenia kadmu w korzeniach, ale jedynie w roślinach eksponowanych na wyższe stężenie tego metalu (50 μM Cd). Podobnej zależności nie stwierdzono w roślinach rosnących w obecności 25 μM Cd. Dlatego wydaje się, że antagonistyczny wpływ selenu na bioakumulację kadmu w systemie korzeniowym może być uzależniony od stężenia tego metalu w podłożu. W częściach nadziemnych, po aplikacji selenu do podłoża zawierającego 25 μM Cd nie stwierdzono istotnego spadku poziomu kadmu. W warunkach skażenia podłoża 50 μM Cd, pod wpływem selenu, stwierdzono natomiast wzrost zawartości tego metalu w pędach. Biorąc pod uwagę oddziaływanie kadmu na akumulację selenu w poszczególnych organach wykazano, że obecność jonów kadmu na ogół wpływała na redukcję zawartości selenu w korzeniach, a jednocześnie nie zmieniała znacząco jego poziomu w częściach nadziemnych. Wyniki przeprowadzonych badań sugerują, że toksyczne oddziaływanie kadmu na rośliny ogórka może być częściowo niwelowane przez wprowadzenie do podłoża selenu. Jednak korzystny wpływ selenu na wzrost traktowanych kadmem roślin ogranicza się tylko do ich systemu korzeniowego i związany jest prawdopodobnie z ograniczeniem akumulacji kadmu w tkankach korzeni, zahamowaniem szkodliwego procesu peroksydacji lipidów błon komórkowych w tych organach, jak również wzrostem stabilności błon komórkowych w tkankach liści.

Wpływ selenu na tolerancję ogórka na stres niskotemperaturowy

Wpływ selenu na odporność ogórka, gatunku wrażliwego na stres niskotemperaturowy, przedstawiono w publikacji **O.5**. Doświadczenie zróżnicowano pod względem stężenia selenu, który wprowadzano do pożywki w formie selenianu w stężeniach: 0 (kontrola), 2.5, 5, 10 lub 20 μM Se. Rośliny, rosnące początkowo w warunkach optymalnej temperatury (25/20°C; dzień/noc), poddano działaniu krótkotrwałego stresu chłodu: 10/5 °C (dzień/noc) przez 24 h, a następnie 20/15 °C przez kolejne 24 h. Po oddziaływaniu obniżonej temperatury, rośliny przez kolejne 7 dni rosły w warunkach temperatury optymalnej. Poziom peroksydacji lipidów oraz akumulację wolnej proliny określono bezpośrednio po stresie chłodu oraz po 7 dniach od ustąpienia stresu. Natomiast biomasę roślin i poziom barwników fotosyntetycznych analizowano po 7 dniach po ustąpieniu niskiej temperatury. Wykazano, że biomasa zarówno korzeni, jak i pędów nie ulegała istotnym wahaniom pod wpływem 2,5-10 μM Se, jednak w obecności 20 μM Se ulegała istotnej redukcji. Potwierdziło to

rezultaty wcześniejszych doświadczeń wskazujących, że stężenie 20 μM Se jest toksyczne dla ogórka i nie indukuje wzrostu odporności tego gatunku na czynniki stresowe (**O.3**).

Rośliny rosnące w obecności selenu charakteryzowały się wyższym poziomem proliny w odniesieniu do kontroli, zarówno bezpośrednio po oddziaływaniu stresu chłodu, jak również po 7 kolejnych dniach wzrostu w warunkach optymalnej temperatury. Jednak poziom tego aminokwasu był dużo wyższy bezpośrednio po stresie. Pozytywna korelacja pomiędzy akumulacją endogennej proliny a wyższą odpornością roślin na chłód została potwierdzona głównie u gatunków odpornych na niską temperaturę (Kishor i in. 2005, Kaur i in. 2011). Natomiast u większości roślin wrażliwych na chłód, akumulacja wolnej proliny nie indukuje wzrostu ich tolerancji na ten czynnik stresowy, chyba że prolina aplikowana jest w sposób egzogeny, przed wystąpieniem stresu (Theocharis i in. 2012). Jednak odnotowany w badaniach własnych wzrost poziomu proliny indukowany obecnością selenu, ze względu na udział tego aminokwasu m.in. w dostosowaniu osmotycznym, stabilizacji białek i błon komórkowych oraz jego właściwości antyoksydacyjne (Kishor i in. 2005), może potencjalnie przyczyniać się do wzrostu tolerancji ogórka na chłód. Potwierdzeniem tego mechanizmu może być zmniejszona peroksydacja lipidów w korzeniach roślin biofortyfikowanych selenem, w porównaniu do roślin nie wzbogaconych tym pierwiastkiem, szczególnie bezpośrednio po stresie niskotemperaturowym. Ponadto, niezależnie od obecności selenu, bezpośrednio po oddziaływaniu chłodu nasilenie zjawiska peroksydacji lipidów było znacznie wyższe niż w okresie późniejszym, co pośrednio potwierdza indukowany niską temperaturą stres oksydacyjny i związane z tym uszkodzenia systemu błon komórkowych u gatunków ciepłolubnych, takich jak ogórek. Chociaż selen zastosowany w zakresie stężeń 2,5-10 μM modyfikował fizjologiczną odpowiedź ogórka na stres chłodu, powodując wzrost poziomu proliny w tkankach liści oraz ograniczając peroksydację lipidów w tkankach korzeni, odporność tego gatunku na niską temperaturę w warunkach przeprowadzonego doświadczenia nie była w sposób wyraźny wyższa, ponieważ zarówno biomasa biofortyfikowanych selenem roślin, jak i poziom barwników fotosyntetycznych nie były istotnie różne w odniesieniu do roślin nie wzbogaconych tym pierwiastkiem.

Najważniejsze osiągnięcia prezentowanych badań

Badania przeprowadzone przeze mnie na ogórku i sałacie przyczyniły się do wyjaśnienia niektórych mechanizmów związanych z podwyższoną odpornością biofortyfikowanych selenem roślin na abiotyczne czynniki stresowe. Wykazano m.in., że:

- Selen może efektywnie modyfikować fizjologiczną odpowiedź roślin uprawnych na stresy środowiskowe, przy czym spośród badanych stresów abiotycznych (nadmierne zasolenie, obecność toksycznych metali śladowych, stres niskotemperaturowy), najwyższą skuteczność selenu wykazano w łagodzeniu negatywnych skutków stresu solnego.
- Pozytywny wpływ selenu w niekorzystnych dla roślin warunkach wynika głównie z jego oddziaływania antyoksydacyjnego, które związane jest ze zdolnością do redukcji szkodliwego zjawiska peroksydacji lipidów błon komórkowych, powodującego utratę ich selektywności oraz integralności, co przypuszczalnie przyczynia się także do zachowania prawidłowych funkcji błon tylakoidowych chloroplastów i zlokalizowanych w nich barwników fotosyntetycznych.
- W analizowanych warunkach doświadczalnych (pożywka płynna), wprowadzenie selenu do podłoża oddziałuje korzystnie w większym stopniu na wzrost systemu korzeniowego badanych gatunków niż na wzrost ich części nadziemnych.
- Znaczenie proliny w tolerancji roślin biofortyfikowanych selenem na stres zasolenia oraz chłód nie jest jednoznaczne i wydaje się specyficzne gatunkowo. W przypadku ogórka, poziom tego aminokwasu wzrasta po aplikacji selenu i prawdopodobnie odgrywa pewną rolę w odporności tego gatunku na ww. stesy. Natomiast u sałaty, akumulacja proliny nie jest zależna od obecności selenu w podłożu, a jej zawartość nie różni się istotnie u roślin, w których stwierdzono indukowany selenem wzrost odporności na zasolenie.
- Wpływ selenu na tolerancję roślin na toksyczne stężenia metali śladowych jest w znacznym stopniu uzależniony od wzajemnej proporcji pomiędzy stężeniami badanych pierwiastków w podłożu. Wprowadzenie selenu do żywki zawierającej nikiel lub kadm na ogół wpływa na ograniczenie zawartości tych metali, odpowiednio w częściach nadziemnych lub korzeniach, ale tylko przy stosunkowo wysokich stężeniach niklu lub kadmu w podłożu. Ponadto, w warunkach skażenia niklem, korzystny wpływ selenu na rośliny może wiązać się z jego oddziaływaniem na gospodarkę mineralną i lepszy status zaopatrzenia roślin w makroelementy.

Literatura

- Aslam R., Bostan N., Nabgha-e-Amen, Maria M., Safdar W. 2011. **A critical review on halophytes: Salt tolerant plants.** Journal of Medicinal Plants Research 5: 7108-7118.
- Campbell B.M., Thornton P., Zougmore R., van Asten P., Lipper L. 2014. **Sustainable intensification: What is its role in climate smart agriculture?** Current Opinion in Environmental Sustainability 8: 39-43.

- Chibuikwe G.U., Obiora S.C. 2014. **Heavy metal polluted soils: effect on plants and bioremediation methods.** Applied and Environmental Soil Science, vol. 2014: 1-12, Article ID 752708, doi:10.1155/2014/752708.
- Feng R., Wei C., Tu S. 2013. **The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses.** Environmental and Experimental Botany 87: 58-68.
- Habibi G. 2014. **Role of trace elements in alleviating environmental stress.** W: Ahmad P., Rasool S. (red.) **Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance – Volume I, Biological Techniques.** Academic Press, Elsevier, ss. 313-342.
- Inouhe M. 2005. **Phytochelatin.** Brazilian Journal of Plant Physiology 17: 65-78.
- Kabata-Pendias A., Mukherjee A.B. 2007. **Trace Elements From Soil to Human.** Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Kaur G., Kumar S., Thakur P., Malik J.A., Bhandhari K., Sharma K.D., Nayyar H. 2011. **Involvement of proline in response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to chilling stress at reproductive stage.** Scientia Horticulturae 128(3): 174-181.
- Kishor P.B.K., Sangam S., Amrutha R.N., Laxmi P.S., Naidu K.R., Rao K., Rao S., Reddy K.J., Theriappan P., Sreenivasulu N. 2005. **Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance.** Current Science 88(3): 424-438.
- Kong L., Wang M., Bi D. 2005. **Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the growth of sorrel seedlings under salt stress.** Plant Growth Regulation 45: 155-163.
- Kopsell D.A., Kopsell D.E. 2007. **Selenium.** W: Barker A.V., Pilbeam D. (red.) **Handbook of Plant Nutrition.** Boca Raton, CRS Press, Taylor & Francis Group, ss. 515-550.
- Mechora Š., Ugrinović K. 2015. **Can plant - herbivore interaction be affected by selenium?** Austin Journal of Environmental Toxicology 1: 5.
- Mou B. 2011. **Improvement of horticultural crops for abiotic stress tolerance: An introduction.** HortScience 46(8): 1068-1069.
- Oldfield J.E. 2002. **Selenium World Atlas (2002 Updated Edition).** Selenium-Tellurium Development Association, STDA (www.369.com.cn/En/Se%20Atlas%202002.pdf).
- Rayman M.P. 2000. **The importance of selenium to human health.** The Lancet 356: 233-241.
- Terry N., Zayed M., De Souza M.P., Tarun A.S. 2000. **Selenium in higher plants.** Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 51: 401-432.
- Theocharis A., Clément C. Barka E.A. 2012. **Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures.** Planta 235: 1091-1105.
- White P.J., Broadley M.R. 2009. **Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine.** New Phytologist 182: 49-84.
- Zhu J.K. 2001. **Plant salt tolerance.** Trends in Plant Science 6: 66-71.

V. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO - BADAWCZYCH

a) przebieg pracy naukowo - badawczej przed uzyskaniem stopnia doktora

Działalność naukową rozpoczęłam w 2000 roku wraz z podjęciem studiów doktoranckich na Wydziale Ogrodniczym (obecnie Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu) Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie). Zostałam wówczas włączona w prace zespołu Katedry Fizjologii Roślin, kierowanego przez prof. dr hab. Marię Szymańską, zajmującego się m.in. zagadnieniami związanymi z biologiczną aktywnością pierwiastków śladowych oraz aspektami dotyczącymi łagodzenia skutków stresów abiotycznych w roślinach uprawnych. Częściowo stanowiły one kontynuację problematyki badawczej, podjętej przeze mnie w pracy magisterskiej pt. „Wrażliwość na kadm dzikiego typu *Arabidopsis thaliana* L. (Heynh.) – wpływ na wzrost i wewnątrzkomórkową detoksykację kadmu”, wykonanej w Zakładzie Fizjologii Roślin UMCS.

Badania, które wykonałam w ramach pracy doktorskiej w latach 2000-2004, dotyczyły oceny biologicznej aktywności trzech form chemicznych selenu (selenin, selenian oraz selenometionina) w trzech gatunkach roślin uprawnych (kukurydza, sałata oraz szpinak) w zależności od pH podłoża.

W badaniach tych szczególnie nacisk położyłam na:

- porównanie fitotoksyczności form chemicznych selenu,
- porównanie tolerancji badanych gatunków na selen i ich zdolności do akumulacji tego pierwiastka w poszczególnych organach,
- wpływu pH podłoża na aktywność biologiczną, pobieranie i translokację selenu.

Uzyskane wyniki złożyły się na moją rozprawę doktorską zatytułowaną: „Fizjologiczna aktywność różnych form selenu w roślinach determinowana pH środowiska odżywczego”, którą obroniłam w październiku 2004 roku.

Równolegle do studiów doktoranckich kontynuowałam studia dzienne na kierunku biotechnologia na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UMCS. Pracę magisterską pt. „Charakterystyka oraz oczyszczanie inwertazy i trehalazy z lucerny siewnej *Medicago sativa*” wykonałam w Zakładzie Biologii Molekularnej i obroniłam w lipcu 2002 roku.

Mój dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora obejmuje: **3** oryginalne prace eksperymentalne (II.A.1., II.C.1., II.C.2)*, w tym **1** opublikowana została w czasopiśmie znajdującym się w bazie JCR (II.A.1.) oraz **10** komunikatów konferencyjnych. Łączny IF

* w nawiasach podano numery prac umieszczonych w wykazie opublikowanych prac naukowych (Załącznik nr 6)

tych prac, zgodny z rokiem opublikowania, wynosi **0,495**, a sumaryczna liczba punktów MNiSW – **18**.

b) przebieg pracy naukowo - badawczej po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwa, moją główną problematykę badawczą rozszerzyłam o zagadnienia związane z wykorzystaniem selenu w łagodzeniu skutków związanych z oddziaływaniem na rośliny niekorzystnych czynników środowiska oraz zaangażowałam się w inne badania, związane zarówno z problematyką żywienia mineralnego roślin, jak i badania ekologiczne.

Mój dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora obejmuje **31** oryginalnych prac naukowych, w tym **19** opublikowanych w czasopismach z bazy JCR (łącznie IF, zgodny z rokiem opublikowania – **27,275**; sumaryczna liczba punktów MNiSW, zgodnie z rokiem opublikowania – **468**). Ponadto, wyniki badań zostały zaprezentowane w formie **22** komunikatów konferencyjnych na konferencjach krajowych i międzynarodowych oraz w raporcie końcowym z realizacji projektu badawczego, którego byłam kierownikiem (projekt badawczy własny nr N N310 430939).

Spośród prac naukowych, opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora, **7** oryginalnych prac eksperymentalnych weszło w skład osiągnięcia naukowego, będącego przedmiotem postępowania habilitacyjnego.

c) główne kierunki prowadzonych badań

Równolegle do badań przedstawionych powyżej, które stanowiły podstawę osiągnięcia naukowego, samodzielnie prowadziłam lub współuczestniczyłam w prowadzeniu innych badań naukowych. Profil moich zainteresowań badawczych jest ukierunkowany głównie na zagadnienia związane z żywieniem mineralnym roślin ogrodniczych, ze szczególnym uwzględnieniem roli pierwiastków śladowych w metabolizmie roślin. Prowadzone przeze mnie badania koncentrują się wokół następujących zagadnień naukowych:

Wpływ selenu na wzrost oraz wybrane procesy fizjologiczne przebiegające w roślinach uprawnych

Poszczególne gatunki roślin, a nawet odmiany, charakteryzuje zróżnicowana wrażliwość na pierwiastki śladowe. Dlatego też w ramach prowadzonych badań, których główny nurt

stanowi biologiczna aktywność selenu w roślinach, wykorzystywałam różne gatunki roślin uprawnych takie jak: ogórek, sałata, szpinak, pomidor, kukurydza, słonecznik oraz bazylija. W badaniach skupiałam się na reakcji i wrażliwości poszczególnych gatunków na selen, stosowany w różnych formach chemicznych oraz stężeniach. Rezultaty dotyczące wymienionych zagadnień opublikowałam w postaci 8 oryginalnych prac naukowych, w tym 3 w czasopismach znajdujących się w bazie JCR. Jestem również współautorem rozdziału w monografii dotyczącej selenu.

Część opublikowanych po doktoracie prac była efektem badań, których wyniki zaprezentowano w rozprawie doktorskiej, a następnie przygotowano do druku w czasopismach naukowych. Prace te dotyczyły m.in. wpływu pH podłoża (4.5; 5.8 lub 7.5) na toksyczność, pobieranie i translokację selenu w roślinach sałaty i szpinaku (II.C.3, II.C.4). W doświadczeniach tych zastosowano selen w formie seleninu lub selenianu w zakresie stężeń 5-100 μM . Wykazano, że niezależnie od formy chemicznej selenu, jego stężenie w biomacie wzrastało wraz ze wzrostem pH podłoża. Translokacja selenu z korzeni do organów nadziemnych uzależniona była wyraźniej od jego formy chemicznej niż od pH środowiska i gatunku rośliny. Selen w formie seleninu akumulowany był głównie w korzeniach, podczas gdy znaczna część selenianu transportowana była do części nadziemnych. Wykazano również pozytywny wpływ niskich stężeń tego pierwiastka na wzrost badanych gatunków. Ponadto część przeglądu literatury sporządzona w ramach w rozprawy doktorskiej posłużyła do opracowania rozdziału w monografii dotyczącej roli selenu w roślinach (II.B.1), w której szczegółowo przedstawiono mechanizmy pobierania, akumulacji, translokacji i toksyczności tego pierwiastka, jak również jego biologiczną rolę w roślinach wyższych.

W dalszym etapie przeprowadziłam badania dotyczące wpływu różnych form selenu (selenian lub selenin) na wybrane aspekty statusu oksydacyjnego korzeni kukurydzy (II.C.6). W doświadczeniach tych wykazano, że korzenie kukurydzy rosnącej w obecności 25 μM Se w formie selenianu charakteryzowały się niższym poziomem peroksydacji lipidów oraz wyższym stężeniem zredukowanego glutationu (GSH) w porównaniu z roślinami kontrolnymi, co wskazuje na antyoksydacyjne właściwości selenu. W tych warunkach odnotowano także stymulację wzrostu elongacyjnego systemu korzeniowego. Z drugiej strony, selenian w stężeniu 50 μM oraz obydwie zastosowane stężenia seleninu (25 i 50 μM) wpłynęły na wzrost stopnia peroksydacji lipidów, co wskazuje na prooksydacyjną aktywność tego pierwiastka. Mimo, że w tych warunkach zwiększała się również zawartość GSH, to ten mechanizm obrony komórek przed stresem oksydacyjnym nie był na tyle skuteczny, aby

zapobiec uszkodzeniom lipidów błonowych. Uzyskane dane sugerują, że fitotoksyczność selenu, oprócz licznych zaburzeń metabolicznych, może być spowodowana także jego działaniem prooksydacyjnym.

W innych badaniach przeprowadzonych na kukurydzy skupiłam się na analizie poziomu barwników antocyjanowych, który mógłby być potencjalnym wskaźnikiem toksyczności selenu u tego gatunku (II.A.2). W doświadczeniach tych zastosowano formę mineralną (selenin) lub organiczną (selenometionina) selenu w zakresie stężeń 5-100 μM i zróżnicowane pH pożywki: 4,5; 6,2 lub 7,5. W warunkach kwaśnego pH (4,5) zawartość antocyjanów w liściach kukurydzy rosła prawie liniowo pod wpływem selenometioniny. Podobnej zależności nie odnotowano w obecności selenianu, który indukował akumulację antocyjanów tylko po wprowadzeniu jego najwyższego stężenia do pożywki o pH kwaśnym. Selenometionina stosowana w wysokich stężeniach powodowała wzrost poziomu barwników antocyjanowych również przy wyższych wartościach pH. Analiza wzrostu roślin oraz stężenia barwników fotosyntetycznych wykazała, że selenometionina była formą bardziej fitotoksyczną niż selenian co, biorąc pod uwagę także poziom barwników antocyjanowych, może wskazywać, że podwyższenie stężenia antocyjanów u kukurydzy może stanowić wskaźnik toksyczności selenu.

Na kukurydzy przeprowadzono również doświadczenia dotyczące wpływu selenu w formie seleninu (5-100 μM) na poziom wybranych makroelementów w częściach nadziemnych tego gatunku (II.C.7). Stwierdzono, że wraz ze wzrostem stężenia selenu w podłożu w organach nadziemnych wzrastała zawartość fosforu i wapnia, a jednocześnie spadał poziom potasu. Nie odnotowano natomiast istotnych różnic w zawartości magnezu. Uzyskane wyniki sugerują, że wykazane pod wpływem wysokich stężeń seleninu zaburzenia wzrostu roślin mogą być związane z zakłóceniem równowagi mineralnej, a zwłaszcza z gromadzeniem w tkankach pędów znacznych ilości wapnia i fosforu.

Dalsze prace badawcze dotyczyły biofortyfikacji (wzbogacania) roślin uprawnych selenem oraz mechanizmów związanych ze zróżnicowaną toksycznością dwóch najczęściej występujących w środowisku mineralnych form selenu – selenianu i seleninu. Doświadczenia przeprowadzone na sałacie wykazały, że próg toksyczności seleninu i selenianu dla tego gatunku wynosił odpowiednio 15 i 20 μM , a przekroczenie tych stężeń nasilało fitotoksyczność selenu, zwłaszcza w przypadku seleninu (II.A.6.). Ze względu na to, iż celem badań, oprócz porównania toksyczności poszczególnych form selenu, była także ocena efektywności biofortyfikacji sałaty tym pierwiastkiem, do dalszych eksperymentów wytypowano 4 stężenia selenu, niższe lub równe progowi jego toksyczności tj. 2, 4, 6 i 15

μM . Części nadziemne sałaty biofortyfikowanej selenem zawierały więcej tego pierwiastka po wprowadzeniu do podłoża selenianu niż po aplikacji seleninu, natomiast w korzeniach zależność ta była odwrotna i dużo bardziej wyraźna. Badania te sugerują, że zarówno selenin, jak i selenian stosowane w stężeniach $<15 \mu\text{M}$ mogą być stosowane w hydroponicznej uprawie sałaty w celu biofortyfikacji jej biomasy selenem. W tych warunkach odnotowano korzystny wpływ selenu na wzrost roślin, a jednocześnie nie stwierdzono istotnych zmian w ich statusie oksydacyjnym, zawartości barwników fotosyntetycznych oraz poziomie siarki całkowitej. Jednak stosując selenin w procesie biofortyfikacji trzeba być znacznie bardziej ostrożnym z uwagi na tendencję do dużej bioakumulacji selenu po aplikacji do podłoża tej formy pierwiastka, co w przypadku stężeń zbliżonych do progu jego toksyczności może indukować w roślinach zjawiska prooksydacyjne oraz zaburzać homeostazę związków siarki.

Analizując wpływ seleninu i selenianu na ogórka (II.A.9) stwierdzono, że gatunek ten charakteryzuje się wyższą tolerancją na selen (szczególnie w formie selenianu) niż sałata. Próg toksyczności seleninu i selenianu dla ogórka wyznaczono na poziomie odpowiednio 20 i 80 μM . Również w przypadku tego gatunku stwierdzono korzystny wpływ niskich stężeń selenu na wzrost roślin. W badaniach tych, oprócz zróżnicowanej bioakumulacji selenu w poszczególnych organach w obecności badanych form chemicznych selenu, po aplikacji do podłoża seleninu wykazano znaczny wzrost aktywności dehydrogenaz zlokalizowanych w stożkach wzrostu korzeni. Może to wskazywać na indukowane seleninem zaburzenia aktywności dehydrogenaz mitochondrialnych w aktywnych metabolicznie komórkach strefy merystematycznej korzeni i związane z tym nieprawidłowości w przebiegu procesów oddechowych, co w połączeniu z wysoką bioakumulacją selenu w tych organach wpływa na wyższą toksyczność seleninu w porównaniu z selenianem. Selenin wywierał również wpływ na peroksydację lipidów w tkankach korzeni: w niskich stężeniach ($<10 \mu\text{M}$) hamował ten proces, podczas gdy wyższe jego stężenia ($>20 \mu\text{M}$) nasilały akumulację szkodliwych produktów peroksydacji. Natomiast wprowadzenie do podłoża selenianu na ogół przyczyniało się do obniżenia poziomu peroksydacji lipidów. Obecność seleninu, w stężeniach przekraczających próg jego toksyczności, wpływała też niekorzystnie na poziom barwników fotosyntetycznych oraz niektóre parametry fluorescencji chlorofilu. Przy wysokich stężeniach selenu notowano także zaburzenia w poziomie makroelementów w częściach nadziemnych, szczególnie potasu, fosforu i siarki siarczanowej, natomiast całkowita zawartość azotu utrzymywała się na stałym poziomie w szerokim zakresie stężeń selenu. Selenin i selenian aplikowane do podłoża płynnego w stężeniach poniżej progu toksyczności tych związków mogą zostać potencjalnie wykorzystane w celu biofortyfikacji ogórka tym pierwiastkiem.

Jednak z uwagi na odnotowane wahania w poziomie makroelementów w częściach nadziemnych roślin, za bezpieczne należałoby uznać stężenia $<10 \mu\text{M Se}$.

W celu biofortyfikacji roślin selenem, oprócz wprowadzania związków tego pierwiastka do podłoża płynnego, stosowano również dolistny sposób jego aplikacji (II.C.8). Do badań wykorzystano uprawianą w glebie bazylię, a selen aplikowano w formie selenianu w stężeniach $1\text{-}50 \text{ mg Se L}^{-1}$. Wykazano, że całkowita zawartość selenu w częściach użytkowych tego gatunku zwiększała się wprost proporcjonalnie do stężenia selenianu w stosowanym do oprysku roztworze, natomiast odwrotną zależność odnotowano analizując poziom peroksydacji lipidów błon komórkowych w liściach. Nie stwierdzono istotnego wpływu dolistnego nawożenia tym pierwiastkiem na zawartość chlorofilu i karotenoidów. Jednak po aplikacji selenu odnotowano wzrost stężenia barwników antocyjanowych oraz związków fenolowych – substancji o działaniu prozdrowotnym. Zatem biofortyfikowana selenem bazylika może być cennym źródłem tego pierwiastka i użytecznym surowcem służącym wzbogacaniu w selen innych produktów żywnościowych.

Wpływ litu na wzrost i wybrane parametry morfologiczno-fizjologiczne roślin uprawnych

Lit jest pierwiastkiem, którego wpływ na rośliny, w porównaniu z innymi metalami śladowymi, poznany jest w bardzo niewielkim stopniu. Zarówno wrażliwość poszczególnych gatunków roślin, jak i wpływ formy chemicznej tego pierwiastka na jego toksyczność były przedmiotem tylko nielicznych badań, co skłoniło nasz zespół badawczy do zgłębienia tej problematyki. Wyniki tych badań zostały opublikowane w dwóch artykułach naukowych (II.A.4., II.A.5.). W doświadczeniach przedstawionych w publikacji II.A.4 analizowano wpływ litu aplikowanego do pożywki w stężeniach $5\text{-}50 \text{ mg Li L}^{-1}$ w formie LiCl na wzrost oraz wybrane parametry fizjologiczne kukurydzy i słonecznika. Wykazano, że dla obu analizowanych gatunków stężenie 50 mg Li L^{-1} było toksyczne i wiązało się z nasileniem niekorzystnego procesu peroksydacji lipidów błon komórkowych. Ponadto w tych warunkach u kukurydzy zaznaczył się spadek stężenia barwników fotosyntetycznych, natomiast u słonecznika obserwowano występowanie nekrotycznych plam na starszych liściach, co sugeruje pewne specyficzne gatunkowo symptomy toksyczności litu. Oprócz tego, badane gatunki charakteryzowała zróżnicowana zdolność do akumulacji litu. W porównaniu z kukurydzą, słonecznik gromadził w częściach nadziemnych dużo większe ilości tego metalu, odpowiednio do 695 i $3292 \text{ mg Li kg}^{-1}$ s.m. Wykazano także, że lit zastosowany w najniższym stężeniu (5 mg Li L^{-1}) stymulował wzrost kukurydzy.

W kolejnych eksperymentach przeprowadzonych na sałacie (II.A.5.) analizowano wpływ dwóch form chemicznych tego pierwiastka (LiCl oraz LiOH) stosowanych w stężeniach 2,5-100 mg Li L⁻¹ na akumulację, translokację oraz fitotoksyczność litu. W przypadku tego gatunku próg toksyczności wynosił 20 mg Li L⁻¹ dla litu stosowanego w formie LiOH i 50 mg Li L⁻¹ dla litu aplikowanego w formie LiCl. Zastosowane stężenia litu nie miały natomiast istotnego wpływu na całkowitą zawartość kwasu L-askorbinowego w częściach użytkowych sałaty. Niezależnie od formy chemicznej, metal ten gromadził się głównie w korzeniach, chociaż w miarę wzrostu jego koncentracji w podłożu efektywność translokacji litu do części nadziemnych sukcesywnie wzrastała.

Ocena możliwości łagodzenia skutków stresów abiotycznych z wykorzystaniem zróżnicowanego żywienia mineralnego lub związków organicznych

Oprócz badań przeprowadzonych na ogórku i sałacie, dotyczących wpływu selenu na tolerancję tych gatunków na stresy abiotyczne, których wyniki opublikowano w postaci cyklu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, analizowałam również wpływ zróżnicowanego żywienia mineralnego oraz innych substancji pod kątem możliwości ich wykorzystania w łagodzeniu stresów abiotycznych.

Liczne badania wskazują, że modyfikacja zawartości makro- i mikroelementów oraz pierwiastków śladowych w środowisku wzrostu może częściowo zapobiegać niektórym negatywnym skutkom związanym z oddziaływaniem czynników stresowych na rośliny. W ramach przeprowadzonych badań dokonano m.in. oceny wpływu wzmoczonego żywienia wapniem lub żelazem (II.A.3) oraz siarką (II.A.13) na tolerancję roślin na nikiel. W doświadczeniach z wykorzystaniem wapnia i żelaza (II.A.3) wykazano, że wzrost ich poziomu w podłożu wywierał pozytywny wpływ na kukurydzę i szpinak rosnące w obecności niklu. W warunkach podwyższonej zawartości tych pierwiastków wykazano wzrost biomasy u kukurydzy, a u obu badanych gatunków odnotowano obniżenie zawartości niklu w częściach nadziemnych. Ponadto intensywne żywienie roślin szpinaku wapniem lub żelazem powodowało w częściach użytkowych podwyższenie stężenia zarówno wolnych jonów wapnia, jak i wapnia związanego. Podobnej zależności nie stwierdzono w odniesieniu do kukurydzy, u której w tych warunkach odnotowano jedynie podwyższenie koncentracji wapnia związanego w korzeniach. Intensywne żywienie żelazem wpływało na wzrost zawartości tego mikroelementu w częściach nadziemnych i korzeniach szpinaku traktowanego niklem. Natomiast w organach nadziemnych kukurydzy zawartość żelaza

wzrastała w roślinach rosnących w podłożu o podwyższonej zawartości zarówno wapnia, jak i żelaza.

W ramach problematyki, związanej z oddziaływaniem wzmoczonego żywienia pierwiastkami z grupy makroelementów na fitotoksyczność metali śladowych, badano także wpływ siarki (w formie siarczanowej) na pszenicę rosnącą w obecności niklu (II.A.13) oraz sałatę rosnącą w obecności kadmu (II.A.15). Wykazano, że podwyższony poziom siarki (6 lub 9 mM S) w podłożu zawierającym nikiel lub kadm może wpływać korzystnie zarówno na biomasa, jak również oddziaływać regulacyjnie na akumulację i homeostazę innych makroelementów w poszczególnych organach roślin. Oceniając wpływ intensywnego nawożenia siarką na rośliny traktowane metalami śladowymi stwierdzono, że stężenie 6 mM S jest bardziej efektywne w łagodzeniu fitotoksyczności tego metalu w stosunku do stężenia wynoszącego 9 mM S. W doświadczeniach tych wykazano również, że akumulacja niklu lub kadmu w korzeniach na ogół wzrastała w warunkach intensywnego żywienia siarką, szczególnie pod wpływem 6 mM S. Natomiast obniżenie akumulacji tego metalu w częściach nadziemnych pszenicy odnotowano jedynie pod wpływem 9 mM S, a zatem w warunkach, w których nie stwierdzono indukowanej siarczanami stymulacji wzrostu roślin. W przypadku sałaty, redukcję zawartości kadmu w organach nadziemnych notowano na ogół pod wpływem obu stosowanych stężeń siarki. Podsumowując, można stwierdzić, że zwiększenie zawartości makro- lub mikroelementów w podłożu potencjalnie stanowi efektywną metodę indukującą wzrost odporności roślin uprawnych na nikiel lub kadm.

Wyniki badań dotyczących wpływu nawożenia roślin pierwiastkami śladowymi, opublikowanych w ramach współpracy z naukowcami z Iranu, wskazują na korzystne oddziaływanie selenu w formie seleninu na plonowanie papryki rosnącej w obecności kadmu (II.A.7) oraz na rośliny pomidora uprawiane w warunkach zasolenia (II.A.14). Suplementacja selenem skażonego kadmem podłoża wpływała pozytywnie na wybrane parametry związane z procesem rozmnażania generatywnego (ilość kwiatów, liczba owoców i ich średnica), a w konsekwencji także na plonowanie papryki (II.A.7). Ponadto, obecność selenu w podłożu zawierającym kadm w istotny sposób ograniczała translokację tego metalu do organów generatywnych, jak również wpływała na wzrost stężenia chlorofilu oraz całkowitej zdolności antyoksydacyjnej w tkankach owoców. Jednak w tych warunkach, owoce papryki zawierały na ogół niższy poziom karotenoidów oraz rozpuszczalnych substancji stałych. Biofortyfikacja selenem pomidora rosnącego w warunkach nadmiernego zasolenia podłoża również wpływała pozytywnie na wskaźniki biometryczno-fizjologiczne tego gatunku (II.A.14). W warunkach stresu solnego, wzbogacenie roślin selenem wpływało korzystnie na przyrost biomasy oraz

uwodnienie tkanek, jak również przyczyniło się do zachowania stabilności błon komórkowych. Odnotowano także istotne oddziaływanie tego pierwiastka na reakcje enzymatyczne katalizowane przez katalazę, której aktywność ulegała znacznej redukcji w warunkach zasolenia, a po aplikacji selenu przyjmowała wartości zbliżone do kontrolnych. W przypadku peroksydazy nie odnotowano podobnych zależności. Wydaje się również, że indukowany selenem wzrost tolerancji pomidora na podwyższone zawartości NaCl w podłożu nie jest związany ze zmianami w endogennej zawartości związków fenolowych oraz z akumulacją proliny. Spośród analizowanych stężeń selenu (5 lub 10 μM), bardziej efektywne w łagodzeniu skutków zasolenia było stężenie 10 μM , szczególnie przy wyższym poziomie stresu (50 mM NaCl).

Wzrost tolerancji roślin na stres solny starano się uzyskać wykorzystując również preparaty komercyjne, takie jak Hemozym N-K 4,5-6 (II.C.11). Środek ten jest płynnym nawozem organicznym, uzyskiwanym w procesie hydrolizy białek krwi zwierzęcej, stabilizowanym solami mineralnymi. W przeprowadzonych badaniach poddano ocenie możliwość zastosowania Hemozemu jako składnika podłoża w uprawie żeniszka meksykańskiego – gatunku dość wrażliwego na stres solny i często nasadzanego w obrębie zasolonych terenów zurbanizowanych. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że zarówno w warunkach stresu solnego, jak i w warunkach kontrolnych, aplikacja tego preparatu do podłoża wpływała pozytywnie na żeniszka, stymulując wzrost poszczególnych organów oraz podwyższając wartość dekoracyjną roślin. Wprowadzenie Hemozemu przyczyniło się do wzrostu zawartości chlorofilu w liściach, wzrostu liczby liści na roślinie, jak również wpływało na podwyższenie ogólnej liczby i średnicy kwiatostanów w formie baldachów oraz pojedynczych kwiatów w obrębie baldachu. W tych warunkach obserwowano także bardziej intensywne wybarwienie kwiatów. Z rezultatów badań wynika zatem, że Hemozym może być bardzo korzystnym komponentem podłoża w uprawie żeniszka meksykańskiego, szczególnie w warunkach nadmiernego zasolenia.

Wyniki niektórych doświadczeń sugerują, że istotną rolę w odporności roślin na metale ciężkie odgrywają również niskocząsteczkowe kwasy organiczne. W celu zweryfikowania tej hipotezy analizowano wpływ kwasów jabłkowego i octowego na rośliny słonecznika rosnące w obecności kadmu (II.A.10). Wprowadzenie do podłoża kadmu w stężeniu 5 μM oddziaływało silnie fitotoksycznie, natomiast dodatkowa aplikacja egzogennych kwasów organicznych (250 lub 500 μM) w znacznym stopniu ograniczała negatywny wpływ tego metalu na rośliny. Po aplikacji kwasów organicznych do podłoża zawierającego kadm obserwowano stymulację wzrostu roślin, zwiększenie zawartości barwników

fotosyntetycznych, obniżenie akumulacji nadtlenu wodoru (H_2O_2) oraz wzrost aktywności stożków wzrostu korzeni. Chociaż w tych warunkach odnotowano także wyższy poziom kadmu w korzeniach, to jednak jego toksyczność była znacznie niższa, a translokacja do organów nadziemnych ograniczona. Wykazano również, że kwas jabłkowy w sposób bardziej efektywny niwelował skutki oddziaływania kadmu niż kwas octowy, co najprawdopodobniej wynikało z silniejszego oddziaływania antyoksydacyjnego kwasu jabłkowego niż octowego. Ponadto wzrost stężenia kwasów organicznych z 250 do 500 μM wiązał się z podwyższeniem ich skuteczności w łagodzeniu fitotoksyczności kadmu. Egzogennie aplikowane kwasy organiczne wpływały również na ich poziom wewnątrzkomórkowy, szczególnie w tkankach korzeni. W warunkach obniżonego poziomu endogennych kwasów organicznych pod wpływem kadmu, ich dodatkowa, egzogenna aplikacja mogła w sposób korzystny oddziaływać na metabolizm roślin, zwiększając pulę dostępnych kwasów organicznych.

Wykorzystanie światła emitowanego przez lampy typu LED w uprawie sałaty

Światło jest jednym z najważniejszych czynników środowiskowych wywierających wpływ na procesy życiowe roślin. W ostatnich latach coraz szersze zastosowanie w praktycznych rozwiązaniach oświetleniowych znajdują półprzewodnikowe źródła światła (LED), które można łatwo modyfikować pod względem składu spektralnego. W doświadczeniach przeprowadzonych na sałacie badano wpływ białego światła fluorescencyjnego (FRS) i światła LED na plonowanie, wybrane parametry fotosyntezy oraz zawartość N-ogólnego i azotanów w częściach nadziemnych sałaty w zależności od źródła azotu w podłożu ($N-NO_3$, $N-NH_4$, $N-NH_4/NO_3$) (II.A.8). Uzyskane wyniki wykazały, że plonowanie sałaty było wyższe przy świetle FRS niż przy oświetleniu LED, jednak fotosynteza przebiegała intensywniej przy oświetleniu LED niż FRS. Ponadto, rośliny uprawiane przy świetle FRS posiadały cieńsze blaszki liściowe, jak również charakteryzowały się niższą zawartością barwników fotosyntetycznych, N-ogólnego oraz azotanów. Zróżnicowane pod względem formy żywienia azotem wywierało podobny wpływ na wzrost roślin i analizowane parametry fizjologiczne, niezależnie od rodzaju światła.

W kolejnym etapie badań dostosowano rozkład spektralny światła LED w odniesieniu do wymagań sałaty (II.A.12). W doświadczeniach tych zastosowano światło typu FRS oraz lampy LED o zróżnicowanym składzie spektralnym: emitujące światło białe (LED-12W), czerwone (LED-12R) i czerwono-niebieskie (LED-R+B) – skomponowane z lamp o różnym stosunku diod czerwonych (R) do niebieskich (B) [LED-9R+3B; LED-10R+2B; LED-

11R+1B]. Najniższe plony uzyskano przy oświetleniu typu LED-12W, a najwyższe przy oświetleniu emitowanym przez lampy typu FRS. W warunkach doświetlania lampami LED, najwyższą biomasa charakteryzowały się rośliny rosnące przy oświetleniu LED-12R oraz LED-11R+1B. Wzrost stosunku promieniowania R do B wpływał korzystnie na biomasa części użytkowych tego gatunku oraz powierzchnię liści, jednak jednocześnie wywoływał redukcję zawartości chlorofilu. Liście roślin uprawianych przy świetle LED-R+B charakteryzowały się wyższą przewodnością szparkową, natężeniem fotosyntezy i intensywnością transpiracji w stosunku do roślin rosnących przy pozostałych rodzajach stosowanego światła. Natomiast najniższą wartość parametrów fluorescencji chlorofilu (F_o , F_m , F_v/F_m) stwierdzono przy świetle typu LED-12R. Jednak biorąc pod uwagę zużycie energii przez zastosowane źródła światła, plonowanie roślin i inne określone w ramach badań parametry, najbardziej korzystnym rodzajem światła w uprawie sałaty w warunkach sztucznego oświetlenia wydaje się być światło typu LED-11R+1B.

Ekologia i ochrona populacji reliktowych gatunków z rodziny Salicaceae na Polesiu Lubelskim

Głównym celem przeprowadzonych badań była ocena zdolności reprodukcyjnych oraz różnorodności genetycznej w populacjach wierzby lapońskiej (II.C.9) i wierzby borówkolistnej (II.A.11) – zagrożonych reliktyw borealnych występujących na Polesiu Lubelskim, w celu stworzenia skutecznego programu ich ochrony czynnej. Analizowano mechanizmy odpowiedzialne za wycofywanie się wierzby borealnych z naturalnych siedlisk poprzez ocenę prawidłowości przebiegu procesów rozmnażania generatywnego (żywołność i zdolność kiełkowania pyłku, zdolność i dynamika kiełkowania nasion) w populacjach oraz przez charakterystykę wewnątrz- i międzypopulacyjnej zmienności genetycznej populacji. Uzyskane wyniki wskazują, że żywołność i zdolność kiełkowania, zarówno pyłku, jak i nasion wierzby były stosunkowo wysokie. W badanych populacjach nie stwierdzono występowania klonów, a oczekiwana heterozygotyczność osiągała poziom umiarkowany. Dane te wskazują na dominującą rolę rozmnażania płciowego wierzby borealnych na obszarze Polesia Lubelskiego. Niestety, w przypadku wierzby lapońskiej występowanie młodych osobników (siewek) obserwowano tylko w jednej z pięciu badanych populacji. Wewnątrzpopulacyjna zmienność genetyczna tego gatunku nie była zbyt wysoka i powstała w dość krótkim czasie, prawdopodobnie w drugiej połowie XX wieku, w wyniku fragmentacji siedlisk. Informacje te sugerują, że brak odpowiedniego przepływu genów poprzez pyłek lub

nasiona, może prowadzić do dalszego różnicowania populacji wierzby lapońskiej, a nawet ekstynkcji najmniej licznych populacji.

W przypadku wierzby borówkolistej, genetyczne zróżnicowanie międzypopulacyjne było dość wysokie, a wewnątrzpopulacyjna zmienność genetyczna przybierała wartości średnie. Dobra kondycja dwóch z trzech badanych populacji wierzby borówkolistej, określona na podstawie zmienności genetycznej oraz zdolności do rozmnażania generatywnego, daje szansę na ich przetrwanie. Biorąc jednak pod uwagę notowany w ostatnich latach spadek liczebności populacji badanych gatunków, powinny zostać podjęte odpowiednie działania mające na celu zasilenie istniejących populacji wierzby borealnych oraz rekonstrukcji populacji wierzby lapońskiej na wybranych stanowiskach, gdzie warunki siedliskowe są najbardziej zbliżone do preferowanych przez ten gatunek. Odbudowa populacji wierzby lapońskiej i borówkolistej na terenie Polesia Lubelskiego może być realizowana z wykorzystaniem osobników powstałych w wyniku uprawy *ex situ*, zarówno z nasion, jak i części wegetatywnych roślin. Z uwagi na obserwowany ciągły spadek liczebności pozostałych na Polesiu Lubelskim populacji wierzby borealnych, w regionie tym powinny zostać podjęte niezwłoczne działania dotyczące ich ochrony czynnej.

d) Podsumowanie dorobku naukowo - badawczego

Mój dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje łącznie **34** oryginalne prace naukowe (486 pkt. MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania), w tym **20** opublikowanych w czasopiśmie indeksowanych w bazie JCR, oraz **32** komunikaty zjazdowe. Łączny Impact Factor (IF) publikacji wynosi **28,033**. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora opublikowałam **31** prac (468 pkt. MNiSW; IF = 27,275), w tym **19** w czasopiśmie z bazy JCR, oraz **22** komunikaty w materiałach konferencyjnych. Sumaryczne zestawienie informacji na temat dorobku naukowo - badawczego oraz wskaźników dokonań naukowych ujęto w formie tabelarycznej (Tab. 1 i 2).

Tab. 1. Sumaryczne zestawienie czasopism, w których opublikowano prace naukowe wraz z IF oraz liczbą punktów przysługującą za publikacje w tych czasopismach

Lp.	Nazwa czasopisma	Liczba publikacji	IF (w roku opublikowania)	5-letni IF	Punkty wg MNiSW*	Punkty wg MNiSW**
Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR)						
1.	Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica	(1)	(1,044)	(1,044)	(20)	(20)
2.	Acta Physiologiae Plantarum	1	1,671	1,671	25	25
3.	Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus	2	1,053	1,002	35	30
4.	Archives of Agronomy and Soil Science	1	0,549	0,549	20	20
5.	Biological Trace Element Research	5 (2)	7,313 (2,650)	8,500 (3,400)	68 (23)	75 (30)
6.	Cellular & Molecular Biology Letters	1	0,495	1,650	10	15
7.	Environmental Science and Pollution Research	1	2,920	2,920	30	30
8.	Fresenius Environmental Bulletin	(1)	(0,531)	(0,420)	(10)	(15)
9.	Journal of Environmental Management	1	3,895	3,895	35	35
10.	Journal of Plant Nutrition	1	0,512	0,700	10	20
11.	Journal of Toxicology and Environmental Health, Current Issues	1	1,637	2,040	27	25
12.	Plant Growth Regulation	1	1,625	1,980	30	30
13.	Plant Physiology and Biochemistry	1	2,756	3,330	35	35
14.	Polish Journal of Ecology	1	0,667	0,650	15	15
15.	Scientia Horticulturae	(1)	(1,365)	(1,785)	(35)	(35)
Publikacje naukowe w czasopismach wymienionych w części B wykazu czasopism naukowych MNiSW						
16.	Journal of Elementology	1	-	0,755	6	15
17.	Vegetable Crops Research Bulletin (obecnie: Journal of Horticultural Research)	2 (1)	-	-	12 (6)	28 (14)
18.	Biotechnologia	1	-	-	4	13
19.	Acta Agrobotanica	1	-	-	14	14
20.	Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu, Ogrodnictwo (obecnie: Nauka Przyroda Technologie)	2 (1)	-	-	4 (2)	18 (9)
21.	Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych	2	-	-	8	26
22.	Folia Horticulturae	2	-	-	17	28
23.	Turkish Journal of Botany	1	-	-	10	10
24.	Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Rolnictwo (obecnie: Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Rolnictwo)	1	-	-	3	9
Publikacje nieujęte w aktualnym wykazie czasopism naukowych MNiSW						
25.	Rozdział w monografii w języku polskim: „Selen – pierwiastek ważny dla zdrowia, fascynujący dla badacza”, Wyd. Malamut, Warszawa, 2007	1	-	-	3	4
ŁĄCZNIE, (w tym dla osiągnięcia)		34 (7)	28,033 (5,590)	31,831 (6,649)	486 (96)	590 (123)

IF - w przypadku publikacji z 2015 oraz 2016 roku uwzględniono 5-letni IF lub ostatni dostępny IF

* wg załączników do Komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 23 grudnia 2015 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych

** wg Komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 23 grudnia 2015 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikacje w tych czasopismach

- w nawiasach zaznaczono publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

Tab. 2. Wskaźniki dokonania naukowych wg najważniejszych baz danych (stan na dzień 14.06. 2016)

Baza danych	Liczba dokumentów w bazie	Liczba cytowań	Indeks Hirscha
Scopus	24	177 (164 [*])	8
Web of Science (WoS)	22	162 (149 [*])	7

* bez autocytowań

e) Kierowanie projektami badawczymi oraz udział w takich projektach

- w latach **2011–2015** byłam kierownikiem tematu realizowanego w ramach działalności statutowej Katedry Fizjologii Roślin UP w Lublinie pt. „Badania nad aktywnością fizjologiczną metali śladowych” (OKA/DS/1), natomiast od początku **2016 r.** do chwili obecnej jestem kierownikiem tematu pt. „Badania nad oddziaływaniem stresów abiotycznych na rośliny uprawne oraz nad sposobami łagodzenia ich niekorzystnego wpływu na procesy fizjologiczne” (OKA/DS/3)

- w latach **2010–2014** byłam kierownikiem projektu badawczego własnego nr N N310 430939 pt. „Biofortyfikacja wybranych warzyw w selen w aspekcie wzrostu ich odporności na zasolenie lub metale ciężkie” finansowanego przez MNiSW (od 2011 r. NCN) w ramach 39. konkursu o dofinansowanie projektów badawczych

- w latach **2010–2014** byłam głównym wykonawcą w projekcie badawczym nr NN304385239 „Ekologia populacji i czynna ochrona reliktyw borealnych z rodziny *Salicaceae* (*Salix lapponum* i *Salix myrtilloides*) na Polesiu Lubelskim” finansowanym przez MNiSW (od 2011 r. NCN) w ramach 39. konkursu o dofinansowanie projektów badawczych

f) Nagrody i wyróżnienia otrzymane za działalność naukową

- **2016 r.** – wyróżnienie JM Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie za osiągnięcia w pracy naukowej

- **2010 r.** – nagroda zespołowa I stopnia JM Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie za osiągnięcia naukowe w latach 2007-2009

- **2008 r.** – wyróżnienie indywidualne za prezentację wyników badań na X Międzynarodowym Sympozjum z cyklu „Pierwiastki śladowe w środowisku”, Koszalin-Mielno 11-14 V 2008 r.
- **2005 r.** – nagroda indywidualna II stopnia JM Rektora Akademii Rolniczej w Lublinie za wyróżniającą się pracę doktorską

Barbara Hawrylak-Nowak