

Dr inż. Magdalena Rybus-Zajac
Katedra Fizjologii Roślin
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Autoreferat
przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych

Poznań 2016

1. IMIĘ I NAZWISKO: MAGDALENA RYBUS-ZAJĄC**2. EDUKACJA I PRZEBIEG PRACY ZAWODOWEJ**

12.06.1986 - magister inżynier ogrodnictwa na Wydziale Ogrodniczym Akademii Rolniczej w Poznaniu; Praca magisterska pt: Skuteczność 4 fungicydów zastosowanych do dezynfekcji podłoża i podlewania roślin przeciw grzybowi *Fusarium oxysporum* f. *dianthi* na goździku szklarniowym oraz ich wpływ na populację mikoflory w podłożu. Praca wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Tadeusza Glasera.

29.09.1998 - doktor nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwa na Wydziale Ogrodniczym Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu; Rozprawa doktorska pt. „Fizjologiczno-biochemiczna charakterystyka patogenezы brunatnej plamistości liści łąbinu”. Promotor: prof. dr hab. Monika Kozłowska, recenzenci: prof. dr hab. Zenon Krzywański, prof. dr hab. Zofia Pokacka.

Inne formy edukacji

1992 - kurs pedagogiczny

1995 - staż w Instytucie Roślin i Przetworów Zielarskich w Poznaniu, dotyczący analityki związków fenolowych metodą chromatografii cieczowej

2015 - staż naukowy w Instytucie Ochrony Roślin - Państwowym Instytucie Badawczym w Poznaniu, dotyczący zastosowania technik biologii molekularnej i nowoczesnych metod badawczych w diagnostyce fitopatologicznej

Przebieg zatrudnienia

01.09.1988-31.08.1989 - nauczyciel w Zespole Szkół Rolniczych w Rokietnicy-filia Naramowice

01.10.1989-31.09.1990 - asystent stażysta w Katedrze Fizjologii Roślin Akademii Rolniczej w Poznaniu

01.10.1990-31.01.1999 - asystent w Katedrze Fizjologii Roślin Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu

Od 01.02.1999 adiunkt w Katedrze Fizjologii Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. W okresie od 1.09.2008 do 26.08.2009 - zwolnienie lekarskie z powodu choroby nowotworowej, długotrwałego leczenia onkologicznego oraz rehabilitacji. Od 1.09.2011 do 29.02.2012 urlop dla poratowania zdrowia.

3. Działalność naukowo-badawcza

3.1. Opis osiągnięcia naukowego będącego podstawą do złożenia wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego

Zgodnie z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki ((Dz. U. nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) przedstawiam osiągnięcie naukowe pod tytułem:

Reakcja ogórka (*Cucumis sativus* L.) na oddziaływanie zwiększonego promieniowania ultrafioletowego (UV-B)

udokumentowane cyklem 6 publikacji powiązanych tematycznie:

I.B.1. Kubiś J., **Rybus-Zajac M.** 2008. Drought and excess UV-B irradiation differentially alter the antioxidant system in cucumber leaves. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 50/2: 35-41.

MNiSW₂₀₀₈ 10 pkt MNiSW₂₀₁₅ 20 pkt IF₂₀₀₈ 0,351

I.B.2. **Rybus-Zajac M.** 2009. Czy zwiększone promieniowanie UV-B modyfikuje poziom barwników chloroplastowych oraz związków fenolowych w siewkach ogórka. *Nauka Przyroda Technologie: Ogrodnictwo*. 3, 3, #72.

MNiSW₂₀₀₉ 4 pkt MNiSW₂₀₁₅ 9 pkt

I.B.3. **Rybus-Zajac M.**, Kubiś J. 2010. Effect of UV-B radiation on antioxidative enzyme activity in cucumber cotyledons. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 52/2: 97-102.

MNiSW₂₀₁₀ 13 pkt MNiSW₂₀₁₅ 20 pkt IF₂₀₁₀ 0,581

I.B.4. **Rybus-Zajac M.**, Kubiś J. 2012. Effects of UV-B radiation on carbohydrate metabolism and light absorbing compounds in cucumber cotyledons. *Fresenius Environmental Bulletin*. 21/3: 723-730.

MNiSW₂₀₁₂ 15 pkt MNiSW₂₀₁₅ 15 pkt IF₂₀₁₂ 0,641

I.B.5. **Rybus-Zajac M.** 2012. Wpływ zwiększonego promieniowania UV-B na poziom barwników chloroplastowych i intensywność fotosyntezy w siewkach ogórka. *Nauka Przyroda Technologie: Ogrodnictwo*. 6, 3, # 47.

MNiSW₂₀₁₂ 5 pkt MNiSW₂₀₁₅ 9 pkt

I.B.6. **Rybus-Zajac M.**, Kubiś J., Bocianowski J. 2014. UV-B radiation does not limit carbohydrate level and carbohydrate metabolism in cucumber leaves. *Communications in Biometry and Crop Science*. 9/1: 3-14.

MNiSW₂₀₁₄ 10 pkt *MNiSW₂₀₁₅ 13 pkt*

Łączna liczba punktów prac I.B.1 - I.B.6 wg MNiSW zgodnie z rokiem publikacji wynosi 57, wg MNiSW₂₀₁₅ - 86

Sumaryczny IF prac I.B.1 - I.B.6 w roku publikacji wynosi 1,573.

Oświadczenia Współautorów prac I.B.1 - I.B.6 dotyczące ich indywidualnego wkładu w powstanie publikacji zawiera załącznik 7. Żadna z w/w prac nie była częścią monotematycznego cyklu w innym postępowaniu habilitacyjnym.

Wprowadzenie

Rośliny rosnące w warunkach naturalnych są narażone na wiele niekorzystnych czynników środowiska działających pojedynczo, ale także łącznie w tym samym czasie lub sekwencyjnie. Jednym z tych czynników jest promieniowanie ultrafioletowe, szczególnie w zakresie UV-B. Ilość promieniowania ultrafioletowego docierająca do powierzchni Ziemi sukcesywnie zwiększa się, m.in. w wyniku uszkodzenia warstwy ozonowej w stratosferze. Obliczono, że 1% redukcja warstwy ozonowej powoduje wzrost natężenia tego promieniowania o 1,3%-1,8%. Ponadto, natężenie promieniowania UV-B zależy od szerokości geograficznej, wysokości nad poziomem morza (im większa wysokość, tym silniejsze promieniowanie), pory roku, a także warunków meteorologicznych, w tym zachmurzenia – promieniowanie UV-B jest silnie pochłaniane przez chmury. Uważa się obecnie, że występująca w przyrodzie dawka promieniowania na poziomie $5 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ na dzień to tzw. natężenie środowiskowe – np. stwierdzone w środkowej Polsce przy bezchmurnym niebie, natomiast $10 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ na dzień to dawka podwyższona. Poziom UV-B na powierzchni Ziemi w sezonie wegetacyjnym sięga nawet do $12 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ na dzień (Ballar'e i in. 2011). Reakcje roślin na oddziaływanie zwiększonego promieniowania UV-B są zróżnicowane nie tylko pomiędzy gatunkami, ale też wśród odmian i ich genotypów (Fedina i in. 2001, Hideg i in. 2006, Kumagai 2001, Sangtarash i in. 2009, Skórska i Lewandowski 2003, Vyšniauskienė i Rančelienė 2014, Wu i in. 2011, Xu i in. 2008, Yanqun i in. 2003, Zu i in. 2004). Ponadto rośliny danej odmiany mogą różnić

się wrażliwością na zwiększoną radiację na poszczególnych etapach rozwoju (Majer i Hideg 2012). Gatunki jednoliścienne generalnie są mniej wrażliwe niż dwuliścienne (Kakani i in. 2003).

Skutki oddziaływania zwiększonego promieniowania UV-B są nie tylko specyficzne gatunkowo i odmianowo, ale także zależą od interakcji z innymi czynnikami środowiska (Ballar'e i in. 2011, Bandurska i in. 2013, Feng i in. 2007, Jansen i in. 2012). Czynniki abiotyczne takie jak deficyt wody, stres termiczny, światło fotosyntetycznie aktywne (PAR) czy stan odżywienia roślin, mogą nasilać bądź osłabiać wpływ zwiększonego natężenia promieniowania UV-B na rośliny. Zaobserwowano również, że promieniowanie UV-B osłabiało lub nasilało reakcje roślin na inne czynniki stresowe (Kyparissis i in. 2001). Dla przykładu rośliny rzodkiewnika poddane działaniu zwiększonego natężenia promieniowania UV-B wykazywały większą odporność na stres deficytu wody (Poulson i in. 2006). Bardzo duże znaczenie w odpowiedzi roślin na działanie promieniowania UV-B mają warunki świetlne. Wysokie natężenie światła PAR może ograniczać uszkodzenia wywołane przez promieniowanie UV-B (Adamse i Britz, 1992, Hideg i in. 2013). Natomiast niski poziom PAR zwiększał szkodliwe działanie UV-B, powodując zmniejszenie masy liści i korzeni oraz zawartości chlorofilu w liściach fasoli (Deckmyn i in. 1994). Istotny jest więc stosunek PAR do UV-B.

W wyniku oddziaływania zwiększonych dawek promieniowania UV-B następują liczne zmiany biochemiczne, fizjologiczne i morfologiczne roślin (Frohn Meyer i Staiger 2003, Gwynn-Jones 2001, Jansen 2002, Kakani i in. 2003, Mackerness 2000, Mpoloka 2008, Reboredo i Lidon 2012, Zlatev i in. 2012). Zmiany te obejmują uszkodzenia DNA, denaturację białek i dezintegrację błon komórkowych, a w konsekwencji obniżenie intensywności procesu fotosyntezy oraz zahamowanie wzrostu roślin. Zaburzenia przebiegu fotosyntezy mogą obejmować zmiany w ultrastrukturze chloroplastów, uszkodzenia tylakoidów, zmiany poziomu barwników chloroplastowych, zarówno chlorofili jak i karotenoidów, skutkujące zmniejszeniem aktywności fotosystemu PSII, a także hamowaniem aktywności Rubisco i zakłóceniami w przebiegu fazy niezależnej od światła procesu fotosyntezy (Kataria i in. 2014, Poulson i in. 2006). Zatem promieniowanie UV-B wpływa na metabolizm węgla i azotu prowadząc do ograniczenia wzrostu roślin (Gao i in. 2004, Żuk-Golaszewska i in. 2003). U pszenicy poddanej przez 4 miesiące działaniu podwyższonej radiacji, symulującej 20% redukcję warstwy ozonowej, wykazano spadek biomasy roślin o 18%. Stwierdzono też redukcję powierzchni liści, ograniczenie

fotosyntezy netto, intensywności transpiracji i jednocześnie wzrost zawartości chlorofilu (Correia i in. 1999).

Rośliny wykształciły wiele mechanizmów fizjologicznych i biochemicznych w celu unikania lub tolerowania czynników stresowych. Istotną rolę w odpowiedzi na działanie niekorzystnych czynników środowiska pełnią metabolity wtórne m.in. związki fenolowe, w tym flawonoidy (Agati i Tattini 2010, Staaij i in. 2002). Prekursorami do syntezy tych metabolitów są związki metabolizmu pierwotnego - sacharydy (Buchanan 2000). Zwiększona akumulacja związków fenolowych jest jedną z głównych reakcji na nadmiar promieniowania UV-B (Schreiner i in. 2012). Pochodne kwasu sinapowego stanowią naturalne „ekrany UV” absorbujące promieniowanie z zakresu 280-340 nm (Edreva 2005). Flawonoidy, których akumulację często stwierdza się w komórkach górnej epidermy liści, również stanowią swoisty filtr ograniczający przenikanie przez epidermę promieniowania UV-B. Jednocześnie związki te przepuszczają promieniowanie PAR. Flawonoidy redukując penetrację tkanek przez UV-B chronią DNA i aparat fotosyntetyczny przed uszkodzeniami (Jansen i in. 2012, Mahdavian i in 2008). Dodatkowo powyższe metabolity mają działanie antyoksydacyjne co potwierdza fakt, że występują nie tylko w epidermie bezpośrednio narażonej na działanie UV-B, ale także w subepidermalnych tkankach liści (Agati i in. 2012). Uważa się, że akumulacja tych związków może być ważnym elementem odporności roślin na działanie nadmiaru UV-B (Schreiner i in. 2012).

Badania odpowiedzi roślin na oddziaływanie UV-B wskazują na indukcję stresu oksydacyjnego, który wynika przede wszystkim z aktywacji procesów fotoutleniania i jest związany ze wzmożonym generowaniem reaktywnych form tlenu (RFT) (Mackerness i in. 2001). Odnotowywany jest wtedy podwyższony poziom anionorodnika nadadtlenkowego, który przekształcany jest do nadadtlenku wodoru (H_2O_2) z udziałem enzymu dysmutazy nadadtlenkowej. W efekcie powyższych przemian w komórkach roślinnych następuje kumulacja nadadtlenku wodoru. Nadadtlenek wodoru jest bardzo trwałą i jednocześnie ruchliwą cząsteczką – posiada dużą łatwość przenikania przez błony biologiczne. Nagromadzony w komórkach roślinnych H_2O_2 łatwo wchodzi w reakcje z innymi związkami. Znaczna część tych reakcji ma charakter nieodwracalny, a ich efektem są uszkodzenia organelli. Szczególnym obiektem oddziaływania nadadtlenku wodoru są błony biologiczne. Wysoki poziom H_2O_2 sprzyja też utlenianiu białek i kwasów nukleinowych, co prowadzi do powstania nieaktywnych molekuł (Mahdavian i in. 2008). W warunkach nadprodukcji nadadtlenku wodoru w roślinach dochodzi do licznych zmian metabolicznych mających na celu łagodzenie wewnątrzkomórkowych uszkodzeń. Ważną linią obrony jest aktywacja enzymów

systemu antyoksydacyjnego takich jak: katalaza (CAT), peroksydaza askorbinianowa (APX), peroksydazy gwajakolowa i syringaldazynowa (GPX, SPX) oraz dysmutazy ponadtlenkowe (SOD), które zaangażowane są w usuwanie nadmiaru RFT (Casati i in. 2002, Hideg i in. 2013). Tak więc z jednej strony kumulacja H_2O_2 prowadzić może do zaburzeń procesów metabolicznych i powstawania uszkodzeń struktur komórkowych, a z drugiej do zmian w metabolizmie, które umożliwiają roślinie dostosowanie się do niekorzystnych warunków środowiska (Gill i Tuteja 2010). Reaktywne formy tlenu, w tym H_2O_2 , mogą uruchamiać szlaki sygnałowe prowadzące do wzrostu ekspresji genów kodujących syntazę chalkonową (CHS), która katalizuje jeden z etapów syntezy flawonoidów (Brosché i Strid 2003). H_2O_2 uczestniczy także pośrednio w syntezie lignin, których odkładanie w ścianach komórkowych ogranicza docieranie promieniowania UV-B do wnętrza komórek (Barcelo 1998).

W ostatnich latach ukazało się wiele zarówno oryginalnych jak i przeglądowych publikacji dotyczących wpływu promieniowania UV-B na rośliny. Jednak tylko w niewielu pracach przedstawiono odpowiedzi fizjologiczno-biochemiczne na oddziaływanie zwiększonej radiacji w bardzo wczesnej fazie rozwojowej roślin. Badania stanowiące przedmiot przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego w ramach postępowania habilitacyjnego, które mają charakter badań modelowych, prowadzono na ogórku *Cucumis sativus* L., w dwóch fazach rozwojowych; w fazie liścieni i fazie trzech pierwszych liści. Ogórek jest rośliną kielkującą epigeicznie. W tym typie kiełkowania, na skutek silnego wydłużania części podliścieniowej, następuje wynoszenie ponad powierzchnię gleby liścieni, dzięki czemu stają się one pierwszymi organami przeprowadzającymi fotosyntezę, zanim nastąpi rozwój liści. U kielkujących nadziemnie siewek ogórka światło stymuluje wzrost liścieni, co zapoczątkowuje autotroficzny sposób odżywiania. Osiągnięcie przez siewkę początkowej formy autotroficznej jest procesem złożonym. Następuje wtedy proces deetioloacji, podczas którego zachodzą liczne zmiany metaboliczne; etioplasty przekształcają się w chloroplasty, syntetyzowany jest chlorofil oraz enzymy asymilacji dwutlenku węgla. Powyższe fakty czynią liścienie ogórka bardzo cennym modelem doświadczalnym. Ponadto ogórek jest jednym z podstawowych gatunków warzywnych w Polsce, zajmuje czwarte miejsce w uprawie warzyw. Gatunek charakteryzuje się generalnie płytkim i rozległym systemem korzeniowym, dużą powierzchnią liści i wysoką zawartością wody w owocach. Ma duże wymagania co do temperatury, zarówno powietrza jak i gleby, oraz wilgotności. Jest rośliną bardzo wrażliwą na oddziaływanie niekorzystnych czynników środowiskowych. W naszej strefie klimatycznej może być narażony na zwiększone natężenie promieniowania

UV-B w początkowej fazie wzrostu, ponieważ wysiewany jest do gleby nie wcześniej niż w połowie maja, kiedy mogą występować zwiększone dawki promieniowania UV-B, szczególnie w upalne, bezchmurne dni.

Odmiana 'Dar', na której głównie skupiłam badania, to pierwsza polska odmiana ogórka gruntowego o krzaczastym typie wzrostu, z licznymi pędami bocznymi dorastającymi do 0,5 m. Jest odmianą średnio wczesną. Owoce o długości 8-12 cm o ciemnozielonej skórce z małymi brodawkami, nie przerastają i nie żółkną, polecane są do konserwowania i kwaszenia. Zaletą tej odmiany jest ułatwiony zbiór, na krótszych pędach plonowanie jest bardziej skoncentrowane, dlatego owoce można zbierać raz w tygodniu. Odmiana charakteryzuje się wysoką tolerancją na mączniaka rzekomego. Drugą odmianą wykorzystaną w badaniach był mieszaniec 'Polan' F1, pierwsza polska heterozyjna odmiana ogórka gruntowego, średnio wczesna, plenna. Owoce o długości 8-12 cm, odporne na żółknięcie i rosnące bardzo szybko, polecane są do konserwowania i kwaszenia. Jej zaletą jest wysoka odporność na parcha dyniowatych, co pozwala ograniczyć zabiegi ochrony roślin u tej odmiany.

Omówienie wyników prac stanowiących osiągnięcie naukowe

Materiał doświadczalny stanowiły siewki ogórka odmiany 'Dar' i mieszańcowej odmiany 'Polan' F1 rosnące w kontrolowanych warunkach: temperatura – 25/18°C (dzień/noc), promieniowanie fotosyntetycznie czynne PAR – 14 godzin na dobę (PPFD 120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Stres wprowadzano poprzez traktowanie 7-dniowych i 21-dniowych siewek zwiększoną dawką promieniowania UV-B. Jako źródło promieniowania UV-B zastosowano lampy Philips TL 20W/0.1 RS (maksimum emisji - 315 nm). Siewki ogórka o wykształconych liścieniach (7-dniowe) oraz siewki posiadające 3 liście właściwe (21 dniowe) naświetlano przez 8 godzin na dobę dziewięć do dziesięciu dni. Dawka promieniowania UV-B zastosowana w doświadczeniach wynosiła 16 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ w ciągu doby (555 $\text{mW}\cdot\text{m}^{-2}$) i była około 3-3,5 razy większa niż mierzalne promieniowanie UV-B występujące w słoneczny dzień w Wielkopolsce. Do analiz pobierano odpowiednio liścienie oraz drugi dobrze wykształcony liść. Kontrolę stanowiły liścienie lub liście siewek nietraktowanych promieniowaniem UV-B.

W badaniach skupiłam się na zagadnieniach związanych z reakcją liścieni oraz liści *Cucumis sativus* L. na działanie zwiększonego promieniowania UV-B, celem oceny wpływu tego czynnika stresowego na:

- wzrost roślin; świeżą i suchą masę,

- metabolizm pierwotny, tj. intensywność procesu fotosyntezy, zawartość sacharydów (sacharozy, glukozy i fruktozy) jako produktów fotosyntezy oraz aktywność enzymów związanych z przemianami sacharydów, tj. inwertazy oraz glukozydazy,
- zawartość barwników chloroplastowych, w tym poziom wskaźnika zazielenienia liści (SPAD),
- metabolizm wtórny, czyli poziom związków fenolowych i flawonoidów, które mogą pełnić funkcję ochronną w komórkach roślinnych i jednocześnie mieć związek z obniżeniem szkodliwości UV-B,
- poziom stresu oksydacyjnego: zawartość nadtlenu wodoru (H_2O_2),
- aktywność enzymów systemu antyoksydacyjnego, tj. peroksydazy gwajakolowej (GPX) i syringaldazynowej (SPX), dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) i reduktazy glutationu (GR).

Część badań dotyczyła również odpowiedzi ogórka odmiany 'Dar' w fazie 21 dniowej siewki na pojedyncze oraz łączne działanie zwiększonego natężenia promieniowania UV-B oraz deficytu wody, a w szczególności porównania wpływu tych czynników na uwodnienie liści, poziom suchej masy oraz wskaźniki stresu oksydacyjnego.

Niekorzystny wpływ promieniowania UV-B na rośliny przejawia się między innymi hamowaniem wzrostu części nadziemnych poprzez skracanie międzywęźli oraz zmniejszenie powierzchni blaszek liściowych (Frohnmeier i Staiger 2003, Hollósy 2002, Mackerness 2000). W prezentowanych badaniach wykazano, że zawartość suchej masy liści odmiany 'Dar', po 5, 9 i 11 dniach od momentu działania czynnika stresowego była wyższa niż w kontroli, przy jednoczesnym niewielkim spadku zawartości wody (Kubiś i Rybus-Zajac 2008, pozycja I.B.1). Podobnie u odmiany 'Polan' F1 po potraktowaniu UV-B stwierdzono w liściach zwiększoną akumulację suchej masy (Rybus-Zajac 2012, pozycja I.B.5). Jednocześnie wykazano (dane niepublikowane), że zmniejszała się powierzchnia blaszek liściowych, co świadczyłoby o zwiększeniu ich grubości. Taka reakcja może być postrzegana jako przejaw strategii obronnej polegającej na zmniejszeniu powierzchni pochłaniającej promieniowanie UV-B oraz ograniczeniu jego dostępu do wnętrza liścia. Zmiany te są najprawdopodobniej związane z destrukcją auksyn, wzrostem poziomu etylenu oraz hamowaniem syntezy białek (Jansen i in. 2001, Jansen 2002, Mackerness i in. 2001).

Bardzo częstą odpowiedzią metaboliczną roślin na niekorzystne czynniki środowiska jest spadek intensywności fotosyntezy będący efektem uszkodzenia błon tylakoidów, obniżenia poziomu barwników chloroplastowych, hamowania syntezy białek fotosystemu II oraz białek kompleksu zbierającego światło (LHC) a także obniżenia aktywności Rubisco

(Jenkins 2009, Mackerness 2000, Ueda i Nakamura 2011). W prezentowanych badaniach stwierdziłam, że w liściach obu badanych odmian intensywność fotosyntezy była wyższa u roślin traktowanych UV-B niż u roślin kontrolnych, choć w miarę wydłużania czasu ekspozycji na UV-B, intensywność procesu w niewielkim stopniu obniżała się (Rybus-Zajac 2012, pozycja I.B.5, Rybus-Zajac i in. 2014, pozycja I.B.6). W liścieniach natomiast wykazano, że oddziaływanie podwyższonego natężenia UV-B powodowało zaburzenia intensywności fotosyntezy. U odmiany 'Dar' stwierdzono hamowanie intensywności fotosyntezy, szczególnie w 5 i 7 dniu od momentu traktowania UV-B (Rybus-Zajac i Kubiś 2010, pozycja I.B.3). U odmiany 'Polan' F1 intensywność fotosyntezy po potraktowaniu UV-B pozostawała na poziomie zbliżonym do kontroli (Rybus-Zajac 2012, pozycja I.B.5). Stwierdzone ograniczenie lub brak zmian w intensywności fotosyntezy na skutek oddziaływania UV-B w liścieniach, w przeciwieństwie do wzrostu intensywności fotosyntezy w liściach, mogło być związane z większą wrażliwością liścieni, ponieważ te organy pełnią podwójną funkcję: z jednej strony są wtórnymi donorami asymilatów w fazie kiełkowania, a z drugiej donorami pierwotnymi, gdyż są też organami fotosyntetyzującymi.

W pracach I.B.2 i I.B.4 (Rybus-Zajac 2009, Rybus-Zajac i Kubiś 2012) przedstawione są wyniki badań nad wpływem podwyższonego promieniowania UV-B na poziom barwników chloroplastowych, tj. zawartość chlorofilu i karotenoidów u odmiany 'Dar'. Zastosowana dawka promieniowania UV-B przyczyniła się do wzrostu poziomu barwników chlorofilowych zarówno w liścieniach jak i w liściach ogórka. Natomiast spowodowała tylko niewielki wzrost zawartości karotenoidów w liścieniach i wyraźny wzrost poziomu tych barwników (14-26% w stosunku do kontroli) w liściach. Te różnice mogą w pewnym stopniu wyjaśniać większą wrażliwość liścieni na działanie promieniowania UV-B przejawiającą się hamowaniem intensywności fotosyntezy. Karotenoidy bowiem mogą pełnić funkcje ochronne w stosunku do chlorofilu i aparatu fotosyntetycznego przed szkodliwym działaniem UV-B. Biorąc pod uwagę powyższe wyniki można wnioskować, że odmiana 'Dar' charakteryzowała się większą odpornością na działanie zwiększonej dawki promieniowania UV-B w fazie liści niż w fazie liścieni. Inaczej kształtowały się te zależności u odmiany mieszańcowej ogórka 'Polan' F1. W liścieniach mieszańca poddanych działaniu promieniowania UV-B stwierdziłam wzrost, natomiast w liściach obniżenie poziomu chlorofilu i barwników karotenoidowych (Rybus-Zajac 2012, pozycja I.B.5). Z jednej strony jest to wynik zaskakujący, a z drugiej potwierdza różną reakcję odmian danego gatunku na oddziaływanie promieniowania UV-B.

Dodatkowo oznaczyłam w liściach ogórka odmiany 'Dar' wskaźnik zazielenienia SPAD odpowiadający względnej zawartości chlorofilu (Rybus-Zajac i in. 2014, pozycja I.B.6). Promieniowanie UV-B, od 5 dnia ekspozycji, prowadziło do wzrostu wskaźnika zazielenienia liści. Wynik ten był skorelowany z całkowitą zawartością chlorofilu, którą oznaczano metodą kolorymetryczną, co zgodne jest z danymi literaturowymi (Jangpromma i in. 2010).

Wyniki dotyczące wpływu promieniowania UV-B na zawartość metabolitów pierwotnych (sacharoza, glukoza, fruktoza) w liścieniach i liściach odmiany 'Dar' przedstawiono w pracach I.B.4 i I.B.6 (Rybus-Zajac i Kubiś 2012, Rybus-Zajac i in. 2014). U roślin kontrolnych zawartość sacharozy była zdecydowanie wyższa w liściach niż w liścieniach. Ponadto poziom tego cukrowca w liściach był znacząco wyższy niż glukozy i fruktozy, natomiast w liścieniach poziom glukozy był wyższy niż sacharozy. Stosunkowo duża zawartość glukozy w liścieniach z pewnością była efektem wysokiej aktywności inwertazy (enzymu hydrolizującego sacharozę do monosacharydów). Wykazałam bowiem, że konstytutywny poziom aktywności inwertazy w liścieniach był około dwukrotnie wyższy niż w liściach (Rybus-Zajac i Kubiś 2012, pozycja I.B.4, Rybus-Zajac i in. 2014, pozycja I.B.6). Wynik ten nie był zaskoczeniem albowiem aktywność inwertaz jest zwykle wysoka w najmłodszych tkankach roślin (Ciereszko 2006). Natomiast aktywność glukozydazy u roślin kontrolnych była wyższa w liściach niż w liścieniach (Rybus-Zajac i Kubiś 2012, pozycja I.B.4, Rybus-Zajac i in. 2014, pozycja I.B.6).

Zastosowane promieniowanie UV-B przyczyniało się do wzrostu zawartości węglowodanów rozpuszczalnych, przy czym w liściach w największym stopniu zmiany dotyczyły sacharozy w 3, 5 i 7 dniu stresu. Badania dotyczące odpowiedzi roślin na czynniki stresowe, zwłaszcza abiotyczne, wykazały że następuje wtedy gromadzenie sacharydów, w szczególności sacharozy (Ciereszko 2006, Ciereszko 2007, Gupta i Kaur 2005). Sacharoza jest nie tylko donorem szkieletów węglowych (dostarczanie pośrednich substratów do przemian metabolicznych, materiałów budulcowych i zapasowych) po ustąpieniu czynnika stresowego, ale także jest to cząsteczka sygnałowa i regulatorowa, wpływająca na procesy metaboliczne roślin (Tuteja i Sopory 2008, Hanson i Smeekens 2009). Wyższe nagromadzenie sacharozy w liściach niż w liścieniach siewek może potwierdzać większą odporność ogórka na promieniowanie UV-B w późniejszej fazie rozwoju. Akumulacja tego cukrowca może być też efektem wpływu zastosowanej dawki UV-B na wzrost intensywności fotosyntezy. Ponadto częściowo źródłem sacharozy kumulowanej w liściach pod wpływem UV-B mogły być glukoza i fruktoza transportowane z liścieni, o czym świadczy znacznie

większa aktywacja inwertazy w liściach traktowanych UV-B, enzymu który usprawnia w nich proces rozładunku floemu (Ciereszko 2006, Roitsch i Gonzalez 2004). Dodatkowe źródło substratu do syntezy sacharozy mogła również stanowić glukoza uwalniana w wyniku zwiększenia aktywności glukozydazy w liściach.

Ważną reakcją roślin na działanie promieniowania UV-B jest synteza metabolitów wtórnych: związków fenolowych oraz barwników flawonoidowych (Jansen i in. 2008, Jenkins 2009, Zhang i Björn 2009). Akumulacja metabolitów wtórnych w epidermie czy miękiszu palisadowym stanowi ważne przystosowanie umożliwiające unikanie nadmiernej absorpcji promieniowania UV-B (Jenkins 2009). Wykazanie wpływu zwiększonego promieniowania UV-B na poziom związków fenolowych w liścieniach i liściach ogórka odmiany 'Dar' było przedmiotem badań, których wyniki przedstawiłam w dwóch pracach osiągnięcia naukowego (Rybus-Zajac 2009, pozycja I.B.2, Rybus-Zajac i Kubiś 2012, pozycja I.B.4). Konstytutywny poziom ogólnej puli związków fenolowych w liścieniach był niższy niż w liściach. W wyniku oddziaływania promieniowania UV-B następowało gromadzenie związków fenolowych, w tym flawonoidów, zarówno w liścieniach jak i w liściach odmiany 'Dar'. Jednak większy wzrost poziomu tych związków stwierdzono w liścieniach niż w liściach. Fakt wyższego konstytutywnego poziomu omawianych metabolitów w liściach (3-3.5 krotnie wyższy niż w liścieniach), może w pewnym stopniu tłumaczyć mniejszą ich wrażliwość na zastosowaną dawkę UV-B przejawiającą się wzrostem intensywności fotosyntezy i świadcząca o braku uszkodzeń aparatu fotosyntetycznego. Wynik ten może być następstwem wysokiej aktywności glukozydazy w liściach, gdyż powyższy enzym zaangażowany jest również w uwalnianie związków fenolowych z form nieaktywnych fizjologicznie.

Zwiększony poziom RFT w roślinach w następstwie działania promieniowania UV-B może odgrywać pozytywną rolę poprzez ich udział w kaskadach sygnałowych powodujących zmiany w ekspresji genów odpowiedzialnych za mechanizmy unikania lub tolerowania promieniowania UV-B (He i in. 2014, Neill i in. 2002, Ślesak 2007). Natomiast z drugiej strony reaktywne formy tlenu mogą uszkadzać ważne struktury komórkowe (Jansen i in. 1998). W omawianych badaniach wykazałam, że poziom nadtlenu wodoru w liścieniach wzrastał prawie dwukrotnie już po 5 dniach oddziaływania UV-B (Rybus-Zajac i Kubiś 2010, pozycja I.B.3), co może wskazywać na udział tej cząsteczki sygnałowej w indukcji syntezy związków fenolowych. Dane literaturowe wskazują, że RFT w tym nadtlenek wodoru, przyczyniają się do wzrostu poziomu kwasu jasmonowego i kwasu salicylowego w tkankach. Te regulatory wzrostu odgrywają istotną rolę

w indukcji ekspresji genów związanych z syntezą metabolitów wtórnych, genów zaangażowanych w naprawę DNA oraz kodujących syntezę enzymów antyoksydacyjnych (Mackerness i in. 2001, Broshe i Strid 2003). W liściach gdzie poziom metabolitów wtórnych pod wpływem UV-B wzrastał w mniejszym stopniu, zmiany zawartości nadtlenu wodoru były mniejsze (dane niepublikowane).

Ważnym elementem umożliwiającym tolerowanie promieniowania UV-B jest zwiększona aktywność systemu antyoksydacyjnego, co zapobiega uszkodzeniom struktur komórkowych. W szeregu pracach wykazano, że pod wpływem UV-B wzrasta aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, peroksydazy gwajakolowej, peroksydazy askorbinianowej oraz reduktazy glutationu (Kondo i Kawashima 2000, Mackerness 2000, Ravindran i in. 2010, Vyšniauskienė i Rančelienė 2014, Zinser i in. 2007). W prezentowanych badaniach (Kubiś i Rybus-Zajac 2008 pozycja I.B.1, Rybus-Zajac i Kubiś 2010, pozycja I.B.3) stwierdzono aktywację peroksydaz (oznaczanych wobec syringaldazyny i gwajakolu) na skutek oddziaływania UV-B w liścieniach i w liściach ogórka. Zmiany w aktywności tych enzymów były skorelowane ze wzrostem poziomu nadtlenu wodoru oraz poziomem związków fenolowych. Peroksydazy mogą uczestniczyć w utlenianiu związków fenolowych generując metabolity pośrednie do syntezy barier strukturalnych i w ten sposób odgrywają ważną rolę w odporności roślin na czynniki stresowe, w tym zwiększone natężenie promieniowania UV-B (Jenkins 2009). Ponadto stwierdzono również wzrost aktywności katalazy w liścieniach – ważnego enzymu uczestniczącego w usuwaniu nadtlenu wodoru (Rybus-Zajac i Kubiś 2010, pozycja I.B.3), który był skorelowany ze wzrostem poziomu H_2O_2 . W efekcie traktowania roślin zastosowaną dawką promieniowania UV-B stwierdzono również szybki wzrost aktywności SOD (Kubiś i Rybus-Zajac 2008, pozycja I.B.1, Rybus-Zajac i Kubiś 2010, pozycja I.B.3). Wyniki powyższe sugerują, że peroksydazy, katalaza i dysmutaza ponadtlenkowa mogą stanowić ważną linię obrony przed szkodliwym działaniem nadtlenu wodoru, gromadzonego pod wpływem promieniowania UV-B, w liściach jak i w liścieniach.

W warunkach niedoboru wody rośliny zazwyczaj starają się ograniczyć jej utratę w wyniku transpiracji, poprzez zamykanie aparatów szparkowych. Prowadzi to do ograniczenia asymilacji dwutlenku węgla, zaburzeń w przebiegu fotosyntezy i wzrostu poziomu reaktywnych form tlenu oraz aktywacji enzymów systemu antyoksydacyjnego. Porównując reakcję liści ogórka odmiany 'Dar' na działanie deficytu wody i promieniowania UV-B stwierdzono znacznie większy wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, reduktazy glutationu oraz peroksydazy syringaldazynowej i gwajakolowej pod wpływem

deficytu wody niż w wyniku oddziaływania UV-B (Kubiś i Rybus-Zajac 2008, pozycja I.B.1). Może to świadczyć o uruchomieniu mechanizmów zapobiegających uszkodzeniom i prowadzącym do tolerowania stresu deficytu wody w tkankach, gdyż obniżenie uwodnienia liści było znaczne (RWC obniżony do poziomu 60%). W warunkach jednoczesnego działania obu czynników stresowych aktywność badanych enzymów antyoksydacyjnych generalnie była niższa niż przy pojedynczym ich zastosowaniu. Ta obserwacja świadczy o obniżeniu zdolności obronnych rośliny, będących efektem wzmocnienia negatywnego wpływu tych czynników działających jednocześnie, co skutkowało też mniejszą akumulacją suchej masy.

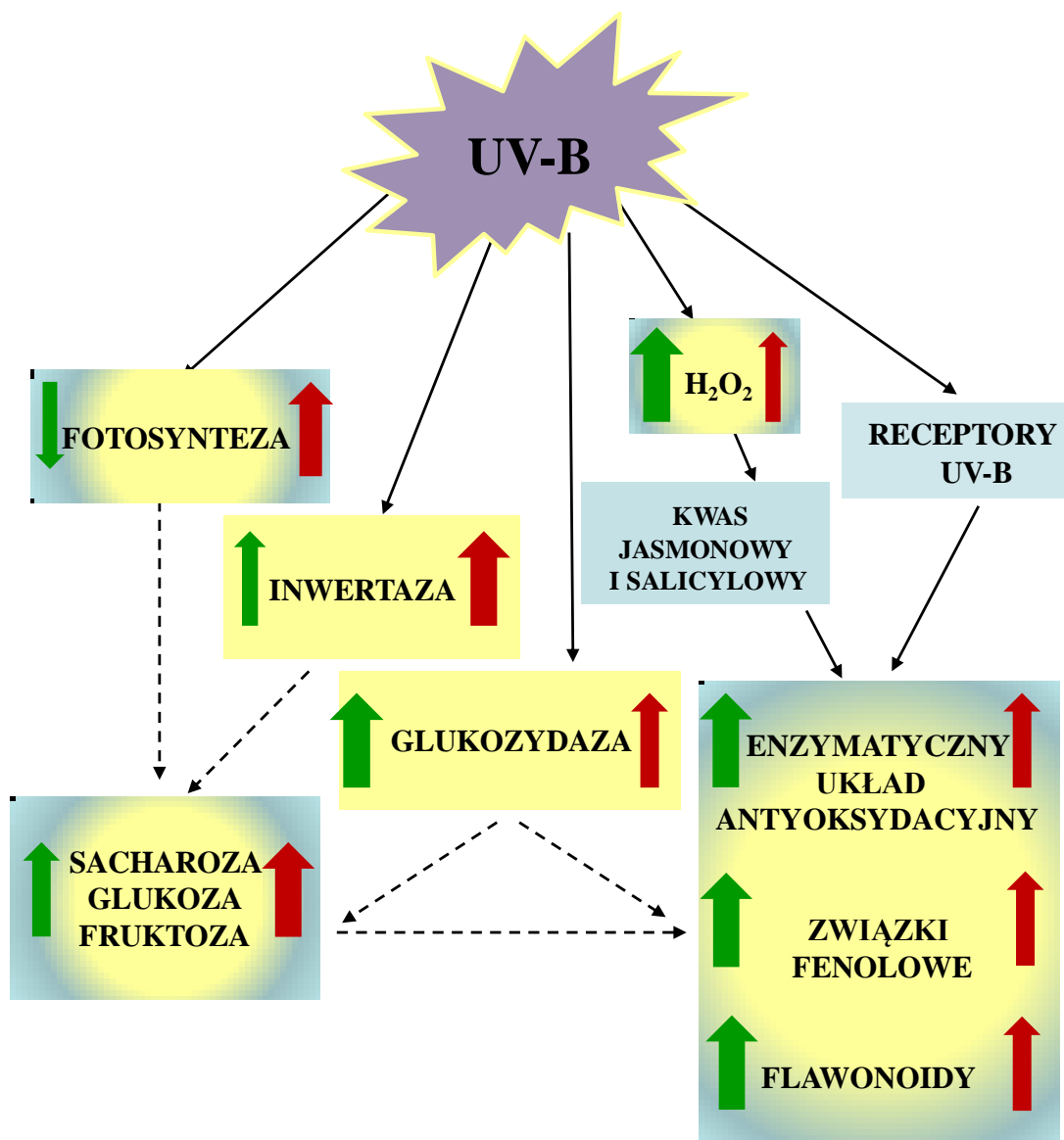
Podsumowanie

Biorąc pod uwagę otrzymane wyniki można stwierdzić, że zastosowana w doświadczeniach dawka promieniowania UV-B przyczyniała się do powstania licznych zmian w metabolizmie siewek ogórka odmiany 'Dar'. Zmiany były efektem aktywacji mechanizmów obronnych takich jak zmniejszenie powierzchni liści, wzrost poziomu barwników karotenoidowych, akumulacja metabolitów wtórnych, aktywacja enzymów antyoksydacyjnych. Skutkowało to zwiększeniem aktywności fotosyntetycznej w liściach, co wskazuje na większą ich odporność na zastosowaną dawkę promieniowania UV-B. W liścieniach uruchomienie mechanizmów obronnych nie było jednak wystarczająco skuteczne, o czym świadczy obniżenie intensywności fotosyntezy. Być może w tych organach dochodziło do bezpośrednich uszkodzeń. Nie można tu wykluczyć uszkodzeń DNA a także aparatu fotosyntetycznego. Zależności między badanymi wskaźnikami dla odmiany 'Dar', na podstawie uzyskanych wyników i danych literaturowych, przedstawiono na schemacie (rycina 1).

W badaniach potwierdzono również fakt, że efekt oddziaływania UV-B na rośliny zależy od interakcji z innymi niekorzystnymi czynnikami środowiska, w tym wypadku deficytem wody. Wykazano, że łączne działanie promieniowania UV-B i deficytu wody oddziaływało synergistycznie i osłabiało uruchomienie mechanizmów obronnych w liściach odmiany 'Dar'.

Brak jednoznacznych zmian w zawartości barwników chloroplastowych u odmiany 'Dar' i mieszańca 'Polan' F1, wskazuje nie tylko na złożoność oddziaływania, ale także na zróżnicowanie reakcji pomiędzy odmianami danego gatunku na promieniowanie UV-B. W celu wyjaśnienia tego problemu powyższe badania będą kontynuowane.

Ryc.1. Schemat przedstawiający wpływ UV-B na badane wskaźniki fizjologiczne na podstawie uzyskanych wyników oraz danych literaturowych



grubość i kierunek strzałki wskazuje odpowiednio na natężenie i charakter zmian (wzrost/obniżenie):
w liścieniach – kolor zielony, w liściach – kolor czerwony

WYNIKI WŁASNE

DANE LITERATUROWE

Cytowane prace

1. Adamse P., Britz S. J. 1992. Amelioration of UV-B damage under high irradiance. I. Role of photosynthesis. *Photochem. Photobiol.* 56 (5): 645-650.
2. Agati G., Tattini M. 2010. Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. *New Phytol.* 186: 786–793.
3. Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Sci.* 196: 67– 76.
4. Ballar´e C. L., Caldwell M., Flint S. D., Robinson S. A., Bornman J. F. 2011. Effects of solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. Patterns, mechanisms, and interactions with climate change. *Photochem. Photobiol. Sci.* 10: 226–241.
5. Bandurska H., Niedziela J., Chadzinikolau T. 2013. Separate and combined responses to water deficit and UV-B radiation. *Plant Sci.* 213: 98– 105.
6. Barcelo A. R. 1998. Hydrogen Peroxide Production is a General Property of the Lignifying Xylem from Vascular Plants. *Annals of Botany.* 82: 97-103.
7. Brosché M., Strid Å. 2003. Molecul arevents following perception of ultraviolet-B radiation by plants. *Physiol. Plant.* 117: 1–10.
8. Buchanan B, B. 2000. Natural Products (Secondary Metabolites). W: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants.* Rockville, Maryland. 1250-1318.
9. Casati P., Lara M.V., Andreo C.S. 2002. Regulation of enzymes involved in C(4) photosynthesis and the antioxidant metabolism by UV-B radiation in *Egeria densa*, a submersed aquatic species. *Photosynth. Res.* 71: 251-64.
10. Ciereszko I. 2006. Kontrola metabolizmu sacharozy u roślin w odpowiedzi na zmienne warunki środowiska. *Kosmos. Prob. Nauk Biol.* 55: 229–241.
11. Ciereszko I. 2007. Odbiór i przekazywanie sygnału wywołanego zmianami poziomem cukrów w komórkach roślin. *Post. Biol. Kom.* 34: 695-713.
12. Correia, C. M., Torres Pereira M. S., Torres Pereira J. M. G. 1999. Growth, photosynthesis and UV-B absorbing compounds of Portuguese Barbeta wheat exposed to ultraviolet-B radiation. *Environ. Pollut.* 104: 383-388.
13. Deckmyn G., Martens C., Impens I. 1994. The importance of the ratio UV-B/ photosynthetic active radiation (PAR) during leaf development as determining factor of plant sensitivity to increased UV-B irradiance: effects on growth, gas exchange and pigmentation of bean plants. *Plant, Cell Environ.* 17: 295 - 301.
14. Edreva A. M. 2005. The importance of non-photosynthetic pigments and cinnamic acid derivatives in photoprotection. *Agr. Ecosyst. Environ.* 106: 135-146.
15. Fedina I., Hidema J., Velitchkova M., Georgieva K., Nedeva D. 2010. UV-B induced stress responses in three rice cultivars. *Biol. Plant.* 54(3): 571-574.

16. Feng H., Li S., Xue L., An L., Wang X. 2007. The interactive effects of enhanced UV-B radiation and soil drought on spring wheat. *South Af. J. Bot.* 73 (10): 429-434.
17. Frohnmeyer H., Staiger D. 2003. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiol.* 133: 1420-1428.
18. Gao W., Zheng Y., Slusser J. R., Heisler G. M., Grant R. H., Xu J., He D. 2004. Effects of supplementary ultraviolet-B irradiance on maize yield and qualities: a field experiment. *Photochem. Photobiol.* 80: 127-131.
19. Gill S. S., Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Bioch.* 48: 909-930.
20. Gupta A. K., Kaur N. 2005. Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. *J. Biosci.* 30: 761-776.
21. Gwynn-Jones D. 2001. Short-term impacts of enhanced UV-B radiation on photoassimilate allocation and metabolism: a possible interpretation for time-dependent inhibition of growth. *Plant Ecol.* 154: 67-73.
22. Hanson J., Smeekens S. 2009. Sugar perception and signaling - an update. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12: 562-567.
23. He, Y., F. Zhan, Y. Zu, C. Liu and Y. Li. 2014. Effect of elevated UV-B radiation on the antioxidant system of two rice landraces in paddy fields on yuanyang terrace. *Int. J. Agr. Biol.* 14: 585-590.
24. Hideg E., Jansen M. A. K., Strid A. 2013. UV-B exposure, ROS, and stress: inseparable companions or loosely linked associated? *Trends in Plant Sci.* 18(2): 107-115.
25. Hideg É., Rosenqvist E., Váradi G., Bornman J., Vincze É. 2006. A comparison of UV-B induced stress responses in three barley cultivars. *Functional Plant Ecol.* 33: 77-90.
26. Hollósy F. 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron.* 33: 179-197.
27. Jangpromma N., Songsri P., Thammasirirak S., Jaisil P. 2010. Rapid Assessment of Chlorophyll Content in Sugarcane using a SPAD Chlorophyll Meter across Different Water Stress Conditions. *Asian J. Plant Sci.* 9(6):368-374.
28. Jansen M. A. K. 2002. Ultraviolet-B radiation effects on plants: induction of morphogenic responses. *Physiologia Plantarum.* 116: 423-429
29. Jansen M. A. K., Gaba V., Greenberg B. M. 1998. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends Plant Sci.* 3: 131-135.
30. Jansen M. A. K., Hectors K., O'Brien N. M., Guisez Y., Potters G. 2008. Plant stress and human health: Do human consumers benefit from UV-B acclimated crops? *Plant Sci.* 175: 449-458.
31. Jansen M. A. K., Hideg É., Lidon F. J. C. 2012. UV-B radiation: "When does the stressor cause stress?" *Emir. J. Food Agric.* 24 (6).

32. Jansen M. A. K., van den Noort R. E., Tan M. Y. A., Prinsen E., Lagrimini L.M., Thorneley R. N. F. 2001. Phenol-Oxidizing Peroxidases Contribute to the Protection of Plants from Ultraviolet Radiation Stress. *Plant Physiol.* 126:1012-1023.
33. Jenkins G. I. 2009. Signal transduction in responses to UV-B radiation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 60: 407–431.
34. Kakani V. G., Reddy K. R., Zhao D., Sailaja K. 2003. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. *Agric. For. Meteorol.* 120: 191–218.
35. Kataria S., Jajoo A., Guruprasad K. N. 2014. Impact of increasing Ultraviolet-B (UV-B) radiation on photosynthetic processes. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 137: 55-66.
36. Kondo N., Kawashima M. 2000. Enhancement of the Tolerance to Oxidative Stress in Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Seedlings by UV-B Irradiation: Possible Involvement of Phenolic Compounds and Antioxidative Enzymes. *J. Plant Res.* 113: 311-317.
37. Kumagai T., Ilidema J., Kang I., Sato T. 2001. Effects of supplemental UV-B radiation on the growth and yield of two cultivars of Japanese lowland rice (*Oryza sativa* L.) under the field in a cool rice-growing region of Japan. *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 83: 201– 208.
38. Kyparissis A., Drilias P., Petropoulou Y., Grammatikopoulos G., Manetas Y. 2001. Effects of UV-B radiation and additional irrigation on the Mediterranean evergreen sclerophyll *Ceratonia siliqua* L. under field conditions. *Plant Ecol.* 154: 189–193.
39. Mackerness A. H. 2000. Plant responses to ultraviolet-B (UV-B: 280–320 nm) stress: What are the key regulators? *Plant Growth Reg.* 32: 27-39.
40. Mackerness A. H., John C.F., Jordan B., Thomas B. 2001. Early signaling components in ultraviolet-B responses: distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide. *FEBS Letters.* 489: 237-242.
41. Mahdavian K., Ghorbanli M., Kalantari K. M. 2008. The effects of ultraviolet radiation on the contents of chlorophyll, flavonoid, anthocyanin and proline in *Capsicum annuum* L. *Turk. J. Bot.* 32: 25-33.
42. Majer P., Hideg É. 2012. Developmental stage is an important factor that determines the antioxidant responses of young and old grapevine leaves under UV irradiation in a green-house. *Plant Physiol. Biochem.* 50:15–23.
43. Mpoloka S. W. 2008. Effects of prolonged UV-B exposure in plants. *African J. Biotech.* 7(25): 4874-4883.
44. Neill S., Desikan R., Hancock J. 2002. Hydrogen peroxide signalling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5(5): 388-395.
45. Poulson M. E., Torres Boeger M. R., Donahue R. A. 2006. Response of photosynthesis to high light and drought for *Arabidopsis thaliana* grown under a UV-B enhanced light regime. *Photosynth. Res.* 90: 79-90.

46. Ravindran K. C., Indrajith A., Pratheesh P. V., Sanjiviraja K., Balakrishnan V. 2010. Effect of ultraviolet-B radiation on biochemical and antioxidant defence system in *Indigofera tinctoria* L. seedlings. Intern. J. Eng. Sci. Technol. 2: 226-232.
47. Reboredo F., Lidon F. J. C. 2012. UV-B radiation effects on terrestrial plants – a perspective. Emir. J. Food Agric. 24 (6): 502-509.
48. Roitsch T, Gonzalez M. C. 2004. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. Trends Plant Sci. 9: 606-613.
49. Sangtarash M. H., Qaderi M. M., Chinnappa C. C., Reid. D. M. 2009. Different sensitivity of canola (*Brassica napus*) seedlings to ultraviolet-B radiation, water stress and abscisic acid. Environ. Exp. Bot. 66: 212-219.
50. Schreiner M., Mewis I., Huyskens-Keil S., Jansen M. A. K., Zrenner R., Winkler J. B., O'Brien N., Krumbein A. 2012. UV-B induced secondary plant metabolites - potential benefits for plant and human health. Crit. Rev. Plant Sci. 31: 229-240.
51. Skórska E., Lewandowski R. 2003. Porównanie reakcji trzech odmian owsa na promieniowanie UV-B. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin. 229: 100-204.
52. Ślesak I., Libik M., Karpinska B., Karpinski S., Miszalski Z. 2007. The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. Acta Bioch. Pol. 54: 39–50.
53. Staaïj van de J., Bakker N. V. J., Oosthoek A., Broekman R., Beem van A., Stroetenga M., Aerts R., Rozema J. 2002. Flavonoid concentrations in three grass species and a sedge grown in the field and under controlled environment conditions in response to enhanced UV-B radiation. J. Photochem. Photobiol. Biol. 66: 21-29.
54. Tuteja N., Sopory S. K. 2008. Chemical signaling under abiotic stress environment in plants. Plant Signal. Behav. 3(8): 525-536.
55. Ueda T., Nakamura C. 2011. Ultraviolet-defense mechanisms in higher plants. Agr. Environ. Biotechnol. 25: 2177-2182.
56. Vyšniauskienė R., Rančelienė V. 2014. Effect of UV-B radiation on growth and antioxidative enzymes activity in Lithuanian potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. Žemdirbystė=Agriculture. 101/1:51-56.
57. Wu X.C., Fang C.X., Chen J. Y., Wang Q.S., Chen T., Lin W.X. 2011. A proteomic analysis of leaf responses to enhanced ultraviolet-B radiation in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in UV sensitivity. J. Plant Biol. 54 (4): 251–261.
58. Xu C, Sullivan J.H., Garrett W.M., Caperna T.J. 2008. Impact of solar ultraviolet-B on the proteome in soybean lines differing in flavonoid contents. Phytochemistry. 69:38-48

59. Yanqun, Z., Yuan L., Haiyan C., Jianjun C. 2003. Intraspecific differences in physiological response of 20 soybean cultivars to enhanced ultraviolet-B radiation under field conditions. *Environ. Exp. Bot.* 50: 87–97.
60. Zhang W.J., Björn L.O. 2009. The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia.* 80:207-218.
61. Zinser Ch., Seidlitz H.K., Welzl G., Sandermann H, Heller H, Ernst D., Rau W. 2007. Transcriptional profiling of summer wheat, grown under different realistic UV-B irradiation regimes. *J. Plant Physiol.* 164: 913–922.
62. Zlatev Z.S., Lidon F.J.C., Kaimakanova M. 2012. Plant physiological responses to UV-B radiation. *Emir. J. Food Agr.* 24 (6): 481-501.
63. Zu, Y., Li Y., Chen J., Chen H. 2004. Intraspecific responses in grain quality of 10 wheat cultivars to enhanced UV-B radiation under field conditions. *J. Photochem. Photobiol. Biol.* 74: 95–100.
64. Żuk-Gołaszewska K., Upadhyaya M. K., Gołaszewski J. 2003. The effect of UV-B radiation on plant growth and development. *Plant Soil Environ.* 49: 135–140.

3.2. Omówienie pozostałego opublikowanego dorobku naukowo-badawczego

Poza tematyką składającą się na badania stanowiące przedmiot osiągnięcia naukowego w ramach postępowania habilitacyjnego, zajmowałam się problemem patogenezy brunatnej plamistości liści łubinu, choroby której czynnikiem sprawczym jest grzyb *Pleiochaeta setosa* (Kirchn.) Hughes. Efektem badań była rozprawa doktorska pt. „Fizjologiczno-biochemiczna charakterystyka patogenezy brunatnej plamistości liści łubinu”. Spośród uprawianych w naszej strefie klimatycznej gatunków do badań wybrano łubin biały – podatny na chorobę i łubin wąskolistny – słabo porażany przez *P. setosa*. Stwierdziłam, że odmiany łubinu białego wykazują jednak zróżnicowanie w podatności na porażenie *P. setosa* – odmiana ‘Bac’ i ‘Kalina’ okazały się bardziej podatnymi w porównaniu z ‘Bardo’, co znalazło odzwierciedlenie w aktywacji peroksydazy w następstwie infekcji. Poinfekcyjne zmiany w aktywności glukozydazy pomiędzy w/w odmianami łubinu białego oraz wąskolistnego: ‘Emir’ i ‘Ignis’ były niewielkie (prace II.A.1, II.D.2, II.D.20). Dlatego też dalsze badania prowadzono na odmianie ‘Bac’ i ‘Emir’ (prace II.D.3, II.D.4, II.D.6, II.D.21, II.D.22). Analizując w nich poziom związków fenolowych, substancji o właściwościach antymikrobowych i fungitoksycznych, w roślinach kontrolnych wykazałam wyższą sumaryczną zawartość metabolitów w łubinie wąskolistnym w porównaniu z białym. W następstwie infekcji stwierdziłam akumulację fenoli, w łubinie wąskolistnym

zdecydowanie wyższą niż w białym. Ponadto, widmo chromatograficzne z wyciągu roślin zdrowych łubinu wąskolistnego było bogatsze od analogicznego z łubinu białego. Akumulacja fenoli w następstwie infekcji mogła być spowodowana ich wzmożoną biosyntezą lub uwalnianiem z form związanych - nieaktywnych fizjologicznie z udziałem glukozydazy i esterazy, stąd też zbadałam aktywności tych hydrolaz. W następstwie infekcji grzybem *P. setosa* wykazałam wzrost aktywności enzymów u obydwu gatunków; w łubinie białym niewielki, a u odporniejszego łubinu wąskolistnego, zdecydowanie wyższy.

Aktywność peroksydazy w liściach łubinów badałam wobec dwóch substratów: dwuaminobenzyny i syringaldazyny, we frakcji rozpuszczalnej i jonowo-związanej. Poziom aktywności enzymu w roślinach kontrolnych był podobny u obu gatunków. Po infekcji następował wzrost aktywności zarówno w łubinie białym jak i wąskolistnym. Zmiany te miały podobny przebieg u badanych gatunków w obu frakcjach.

Analizując zawartość poliamin zidentyfikowałam putrescynę, spermidynę i agmatynę u obu gatunków, w łubinie białym dodatkowo kadawerynę. W roślinach kontrolnych sumaryczna zawartość poliamin była większa w łubinie białym względem wąskolistnego. Po infekcji poziom analizowanych metabolitów ulegał zwiększaniu, silniejszemu w łubinie wąskolistnym spowodowanym głównie zmianami w poziomie spermidyny i agmatyny.

Podsumowując wykazałam, że *P. setosa* wywołuje liczne zmiany metaboliczne w obu badanych gatunkach łubinu. Zasięg i przebieg zmian u gatunków był odmienny. Uzyskane wyniki wskazywały, że istotnym elementem zwiększonej odporności łubinu wąskolistnego względem *P. setosa* jest mechanizm aktywny, będący wynikiem kontaktu rośliny - gospodarza z patogenem, w którym znaczącą rolę odgrywają związki fenolowe, poliaminy i enzymy hydrolityczne. Częściowo interakcji łubin - roślina gospodarz/patogen - *P. setosa* dotyczą też wyniki pracy II.A.2.

Zmiany metaboliczne w siewkach łubinu żółtego porażonych *Fusarium oxysporum* f. sp. *lupini*. oceniano w pracy II.D.7. Wykazano, że inokulacja *F. oxysporum* powodowała zahamowanie wzrostu korzeni siewek łubinu w porównaniu do roślin nieinokulowanych. W siewkach łubinu żółtego, niezależnie od zastosowanego substratu, stwierdzono poinfekcyjny wzrost aktywności peroksydaz. Przebieg tych zmian był skorelowany z aktywacją glukozydazy.

Kolejnym moim problemem badawczym były zagadnienia związane z patofizjologią roślin iglastych (prace II.D.5 i II.D.8). Ta tematyka była efektem obserwacji wieloletnich okazów cisów, w szczególności na terenie Ogrodu Dendrologicznego Uniwersytetu

Przyrodniczego w Poznaniu, na których występowały rozległe zmiany chorobowe. Identyfikacja fitopatologiczna potwierdziła porażenie patogenem grzybowym *Pestalotiopsis funerea*.

W liściach cisów pochodzących z warunków naturalnych o różnym stopniu nasłonecznienia stwierdzono wzmożone generowanie anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\cdot -}$) w tkankach z objawami chorobowymi. Nie było to zaskoczeniem albowiem generowanie reaktywnych form tlenu, w tym anionorodnika, na poziomie przekraczającym poziom fizjologiczny tego metabolitu, jest powszechnym przejawem reagowania roślin na czynniki stresowe. Nie stwierdziłam zależności pomiędzy poziomem anionorodnika nadtlenkowego, a stopniem nasłonecznienia roślin, choć zakładano, że takie mogą występować. Analizując poziom nadtlenu wodoru wykazałam, że endogenne poziomy tej molekuly w liściach cisów rosnących w naturalnych warunkach wzrastał wraz z ich wiekiem. W efekcie porażenia patogenem *P. funerea* generowanie tego metabolitu wzrastało intensywnie, a rośliny na stanowisku nasłonecznionym cechowały się jego wyższym poziomem niż rośliny rosnące na stanowisku półcienistym. Z poziomem H_2O_2 skorelowana była aktywacja peroksydazy (praca II.D.5). W liściach z objawami chorobowymi stwierdzono także wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej.

Analizowałam także poziomy barwników chloroplastowych: chlorofilu *a* i *b* oraz karotenoidów w liściach dwu- i trzyletnich roślin cisa rosnących w warunkach kontrolowanych i poddanych działaniu zwiększonego promieniowania UV-B (praca II.D.13). W roślinach dwuletnich promieniowanie UV-B spowodowało niewielkie zaburzenia w zawartości chlorofilu, ale wzrost zawartości karotenoidów, co prawdopodobnie było podstawą utrzymania procesu fotosyntezy na stabilnym poziomie.

Wszystkie uzyskane wyniki dotyczące cisa pospolitego wskazują, że stres świetlny jak i patogen *P. funerea* indukują w liściach tej rośliny zmiany metaboliczne: powstawanie reaktywnych form tlenu, aktywacja enzymów układu antyoksydacyjnego, wzrost poziomu barwników karotenoidowych. Zmiany te mogą decydować o możliwościach adaptacyjnych rośliny na działanie w/w niekorzystnych czynników środowiska.

Kolejny aspekt moich zainteresowań związany jest ze współpracą, którą podjęłam z katedrami macierzystej uczelni zajmującymi się badaniami o charakterze aplikacyjnym. W ramach współpracy z Katedrą Roślin Ozdobnych problemem badawczym były zagadnienia związane z wpływem regulatorów wzrostu na rozwój wybranych roślin ozdobnych (prace II.A.3, II.D.11, II.D.14, II.D.18). W badaniach tych prowadzonych z moim udziałem wykazano, że kwas giberelinowy (GA_3) wpływał na akumulację węglowodanów

rozpuszczalnych w liściach w trakcie wzrostu wegetatywnego cantedeskiej 'Black Magic' oraz w ogonkach liściowych w fazie kwitnienia. Analizując wpływ kwasu giberelinowego i benzyloadeniny na kwitnienie zawilca wieńcowatego 'Sylphide' okazało się, że jedynie GA₃ przyspiesza o 11-16 dni zakwitanie roślin. Obydwie substancje stymulowały natomiast syntezę chlorofilu i karotenoidów w liściach a także gromadzenie sacharydów. Natomiast w badaniach nad pozbiorną trwałością liści bodziszka stwierdzono, iż 24-godzinne kondycjonowanie liści tego gatunku w wodnym roztworze kwasu giberelinowego o stężeniu 25 i 50 mg·dm⁻³ wydłużyło pozbiorną trwałość roślin nawet do 23 dni. Kwas giberelinowy ponadto hamował degradację chlorofilu i białek w liściach.

W ramach współpracy z Zakładem Roślin Rolniczych Katedry Agronomii, uczestniczę w badaniach nad wpływem wybranych czynników agrotechnicznych na stan odżywienia kukurydzy w krytycznych fazach rozwojowych; młodocianej tj. 7-8 liści i kwitnienia kolb. Oprócz czynników agrotechnicznych badano także wpływ *Fusarium oxysporum* na dynamikę wzrostu.

Prace II.D.9 i II.D.10 dotyczą zależności między wpływem sposobu aplikacji nawozu azotowego; rzędowego lub rzutowego oraz inokulacji nasion kukurydzy grzybem *F. culmorum* na wzrost i rozwój systemu korzeniowego w fazie młodocianej. Za wskaźnik prawidłowego wzrostu przyjęto zawartość barwników chloroplastowych w liściach. W badaniach wykazano, że skuteczniejszą metodą podania nawozu azotowego była metoda rzędowa (punktowa), co skutkowało szybszym wzrostem systemu korzeniowego, w porównaniu do wysiewu rzutowego oraz większą zawartością chlorofilu w blaszkach liściowych roślin. Inokulacja nasion kukurydzy *F. culmorum* prowadziła do spowolnienia rozwoju systemu korzeniowego, co bezpośrednio przełożyło się na spadek zawartości chlorofilu w liściach.

Kilka prac (II.D.1, II.D.12, II.D.16, II.A.6) dotyczy zależności pomiędzy stanem odżywienia azotowego kukurydzy w początkowym okresie wzrostu a wielkością plonu generatywnego u odmian o zróżnicowanym profilu genetycznym (tradycyjna i typu stay-green). W badaniach tych większą zawartość chlorofilu w fazie młodocianej kukurydzy stwierdziłam w blaszkach liściowych odmiany typu stay-green, w porównaniu do mieszańca tradycyjnego. Ponadto odmiana w typie stay-green w fazie kwitnienia kolb była również lepiej odżywiona azotem i miała większą zawartość chlorofilu w stosunku do mieszańca tradycyjnego, przy niższym poziomie (dawce) stosowania azotu. Aktywność reduktazy azotanowej i zawartość azotanów u odmiany stay-green były również wyższe, co wskazuje na bardziej ekonomiczną gospodarkę azotową u tej odmiany. W tym typie

odmiany również istotnie wyższa, w porównaniu do odmiany tradycyjnej, była aktywność kwaśnej inwertazy.

Wyniki badań dotyczące wpływu stosowania nawozów mineralnych (azotowych, fosforowych, potasowych, magnezowych i siarki elementarnej) oraz organicznych na wzrost i zawartość barwników chloroplastowych w liściach kukurydzy pastewnej zamieszczono w pracach II.A.4, II.A.7 i II.A.8. Wykazano tu, że stosowanie azotu w dawce do $120 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$ powodowało niewielki wzrost zawartości barwników w blaszkach liściowych w fazie młodocianej. Natomiast w fazie kwitnienia kolb całkowita ilość chlorofilu wzrastała w przedziale dawek od $0 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$ do $120 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$. Zastosowanie najwyższej dawki, tzn. $150 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$, spowodowało istotne zmniejszenie poziomu chlorofilu. W przypadku stosowania siarki elementarnej zmiany wystąpiły jedynie w ilości chlorofilu *b* w fazie kwitnienia kolb, istotnie największą zawartość barwnika stwierdzono dla dawki wynoszącej $20 \text{ kg S}\cdot\text{ha}^{-1}$, w stosunku do dawek $0 \text{ kg S}\cdot\text{ha}^{-1}$ i $40 \text{ kg S}\cdot\text{ha}^{-1}$. Ponadto dodatkowe zastosowanie magnezu w nawożeniu podstawowym kukurydzy poprawiło efektywność stosowanych nawozów azotowych, fosforowych i potasowych, co skutkowało większą całkowitą zawartością chlorofilu w liściach w fazie młodocianej. Wykazano również, że w fazie kwitnienia kolb niezależnie od stosowania nawozów mineralnych i organicznych, dochodziło do zmniejszenia powierzchni asymilacyjnej pojedynczej rośliny, co było związane ze wzrostem aktywności kwaśnej inwertazy.

Prace II.A.5, II.D.15, II.D.17 i II.D.19 dotyczą wyznaczania zależności pomiędzy stanem odżywienia kukurydzy w newralgicznych stadiach rozwojowych (faza BBCH 15/16, i BBCH 67), a plonem ziarna i stanem zdrowotności roślin oraz wpływu dawek azotu na zawartość azotu mineralnego (N_{\min}) w glebie po zbiorze roślin. Uzyskane wyniki potwierdziły zależność pomiędzy prawidłowym odżywieniem roślin w fazie młodocianej, a wykorzystaniem potencjału plonotwórczego mieszańców kukurydzy; wskaźnikiem odżywienia była zawartość chlorofilu w blaszkach liściowych. Zawartość azotu mineralnego (N_{\min}) w glebie po zbiorze odmiany klasycznej była istotnie większa, w porównaniu do odmiany typu stay-green. Wykazano też, że wielkość uszkodzeń powodowanych przez choroby i szkodniki w sezonach wegetacyjnych kukurydzy, była większa w przypadku dużej ilości opadów, ale istotnie mniejszy odsetek roślin porażonych przez choroby i uszkodzonych przez szkodniki stwierdzono w przypadku odmiany stay-green, w porównaniu do mieszańca tradycyjnego.

Podsumowując, moje zainteresowania naukowe dotyczą fizjologii reagowania roślin uprawnych na niesprzyjające czynniki środowiska tj. patogeny grzybowe, stres radiacyjny i deficyt wody, a także na zróżnicowane nawożenie oraz wpływu regulatorów wzrostu na rozwój roślin ozdobnych.

W ramach działalności naukowej realizowałam liczne wewnętrzuczelniane tematy badawcze, kierowałam trzema tematami badań własnych. Współuczestniczyłam w przygotowaniu trzech projektów badawczych (jeden z nich uzyskał finansowanie). W 2015 roku podjęłam współpracę z Instytutem Ochrony Roślin w Poznaniu-Państwowym Instytutem Badawczym oraz z Instytutem Ogrodnictwa w Skierniewicach (szczegółowe informacje w załączniku 5).

Mój dorobek naukowy łącznie z pracami uwzględnionymi w cyklu publikacji powiązanych tematycznie, stanowiących osiągnięcie naukowe, obejmuje 36 prac oryginalnych, w tym jedną monografię i trzy prace pokonferencyjne - recenzowane, 19 streszczeń będących efektem aktywnego udziału w konferencjach i sympozjach naukowych o zasięgu krajowym i międzynarodowym. Jestem także współautorem 7 skryptów i przewodników do ćwiczeń (zestawienie w tabeli 1). Jako pracownik naukowo-dydaktyczny zostałam nagrodzona przez JM Rektora za osiągnięcia naukowe: pięciokrotnie nagrodą zespołową oraz jeden raz nagrodą indywidualną. Szczegółowe dane dotyczące działalności naukowej, dydaktycznej oraz popularyzacji nauki zawiera załącznik 5.

Tabela 1. Zestawienie całkowitego dorobku naukowego, z włączeniem prac osiągnięcia naukowego

	Liczba	Suma punktów MNiSW 2015r.	Suma punktów MNiSW wg roku wydania	If wg roku wydania
Czasopisma z IF				
Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica	2	40	23	0,351 0,581
Acta Physiologiae Plantarum	2	50	35	0,387, 0,295
Fresenius Environmental Bulletin	4	60	56	2 x 0,660 2 x 0,641
Journal of Chemical Ecology	1	30	16	1,673
Maydica	1	20	20	0,368
Žemdirbyste-Agriculture	1	20	20	0,567
Pozostałe czasopisma				
Acta Agrobotanica	2	28	9	-
Acta Agrophysica	1	14	4	
Acta Scientiarum Polonorum, Agricultura	1	11	4	
Bulgarian Journal of Agricultural Science	1	-	-	
Communications in Biometry and Crop Science	1	13	10	
Dendrobiology	1	20	6	
Electronic Journal of Polish Agricultural Universities	4	48	30	
Nauka Przyroda Technologie: Ogrodnictwo	4	36	20	
Nauka Przyroda Technologie: Rolnictwo	2	18	8	
Phytopathologia Polonica	3	-	13	
Postępy w Ochronie Roślin	1	12	2	
Monografie				
Wybrane zagadnienia ekologiczne we współczesnym rolnictwie. Wyd. Przemysłowy Instytut Maszyn Rolniczych, Poznań	1	3	3	-
Prace konferencyjne				
Łubin- Biańko-Ekologia. Wyd. ICHB PAN, Poznań	1	-	-	-
Łubin: Kierunki Badań i Perspektywy Użytkowe. Wyd. ICHB PAN, Poznań	1	-	-	
Łubin we współczesnym rolnictwie. Wyd. ART, Olsztyn	1	-	-	
Inne				
Streszczenia i udział w konferencjach	19	-	-	-
Współautorstwo skryptów i przewodników do ćwiczeń	7	-	-	-
SUMA	62	423	279	6,824
W tym osiągnięcie naukowe będące podstawą wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego	6	86	57	1,573
Liczba cytowań wg bazy Web of Science wynosi ogółem 71, w tym bez autocytań 66				
Indeks Hirscha wg bazy Web of Science 5				

Magdalena Rybus-Zajac