

Załącznik nr 2

Autoreferat

1. Imię i nazwisko: Anna Jakubska-Busse

2. Dyplomy i stopnie naukowe:

- a) 1999 – magister biologii w zakresie botaniki, dyplom uzyskany na Uniwersytecie Wrocławskim, w Zakładzie Ekologii i Ochrony Przyrody (obecnie Katedra Ekologii, Biogeochemii i Ochrony Środowiska), Wydział Nauk Przyrodniczych (obecnie Wydział Nauk Biologicznych). Temat pracy: „Konstytucja ekologiczna rodzaju *Epipactis* na przykładzie *E. helleborine* (L.) Crantz z Żelazna k. Kłodzka i *E. atrorubens* (Hoffm. ex Bernh.) Besser z Puszczy Augustowskiej”, promotor: Prof. dr hab. Jan Sarosiek.
- b) 2003 – doktor nauk biologicznych w zakresie biologii, dyplom uzyskany na Uniwersytecie Wrocławskim, w Zakładzie Systematyki i Fitosocjologii Instytutu Biologii Roślin (obecnie Zakład Botaniki), Wydział Nauk Przyrodniczych (obecnie Wydział Nauk Biologicznych). Tytuł rozprawy doktorskiej: „Rodzaj *Epipactis* Zinn (Orchidaceae) na Dolnym Śląsku”. Promotor: Prof. dr hab. Jadwiga Anioł-Kwiatkowska, recenzenci: Prof. dr hab. Krystyna Kukułczanka oraz Prof. dr hab. Waldemar Żukowski.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

2013 – obecnie: Adiunkt w Zakładzie Botaniki (dawna KBiOSR), Instytut Biologii Środowiskowej, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski

2012 – 2013: Adiunkt w Katedrze Bioróżnorodności i Ochrony Szaty Roślinnej (dawny ZBiOSR), Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski

2004 – 2012: Adiunkt w Zakładzie Bioróżnorodności i Ochrony Szaty Roślinnej Instytutu Biologii Roślin Uniwersytetu Wrocławskiego

2003 – 2004: Asystent w Zakładzie Systematyki i Fitosocjologii Instytutu Biologii Roślin Uniwersytetu Wrocławskiego

2000 – 2003: studia doktoranckie w Zakładzie Systematyki i Fitosocjologii Uniwersytetu Wrocławskiego

1999 – 2000: studia doktoranckie w Zakładzie Ekologii i Ochrony Przyrody Uniwersytetu Wrocławskiego

4. Opis osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.).

a) Osiągnięciem w myśl ww. Ustawy jest wskazany poniżej jednotematyczny cykl sześciu publikacji, dołączony do dokumentacji jako Załącznik nr 6, objęty tytułem:

„Biologia i ekologia rodzaju *Epipactis* Zinn, 1757 (Orchidaceae, Neottieae)”.

a) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego^{1,2}:

1. **Jakubska-Busse A. 2008.** The range and significance of phenotypic plasticity of Broad-leaved Helleborine *Epipactis helleborine* (L.) Crantz for taxonomy (Orchidaceae: Neottieae) – [In:] Borowiec L., Tarnawski D. (eds.), The importance of natural history museums for taxonomy. – Polish Taxonomical Monographs, Wrocław, 15: 85-92. ISBN 978-83-61764-01-4; IF: 0; MNiSW – **10 pkt**; udział własny: 100%
2. **Jakubska-Busse A., Dudkiewicz M., Jankowski P., Sikora R. 2009.** Mathematical inference of the underground clonal growth of *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (Orchidaceae, Neottieae). – *Botanica Helvetica* 119: 69-76. IF₂₀₀₉: **0.9**; MNiSW - **20 pkt**; udział własny: 40%
3. **Jakubska-Busse A., Gola E. M. 2010.** Morphological variability of Helleborines. I. Diagnostic significance of morphological features in *Epipactis helleborine* (L.) Crantz, *Epipactis atrorubens* (Hoffm.) Besser and their hybrid, *Epipactis xschmalhausensis* Richt. (Orchidaceae, Neottieae). – *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 79.3: 207-213. IF_{5-letni}: **0.476**; MNiSW - **15 pkt**; udział własny: 65%
4. **Jakubska-Busse A., Kadej M. 2011.** The pollination of *Epipactis* Zinn, 1757 (Orchidaceae) species in Central Europe - the significance of chemical attractants, floral morphology and concomitant insects. – *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 80.1: 49-57. IF_{5-letni}: **0.476**; MNiSW - **15 pkt**; udział własny: 80%
5. **Jakubska-Busse A., Proćków J., Górniak M., Gola E. M. 2012.** Is *Epipactis pseudopurpurata* distinct from *E. purpurata* (Orchidaceae)? Evidence from morphology, anatomy, DNA and pollination biology. – *Botanical Journal of the Linnean Society* 170: 243-256. IF₂₀₁₂: **2.589**; MNiSW - **30 pkt**; udział własny: 45%
6. **Jakubska-Busse A., Gola E. M. 2014.** Validation of leaf undulation traits in the taxonomy of *Epipactis muelleri* Godfery, 1921 (Orchidaceae: Neottieae). – *Plant Systematics and Evolution* DOI: 10.1007/s00606-014-0996-x IF₂₀₁₂: **1.312**; MNiSW - **20 pkt**; udział własny: 60%

¹ Oświadczenia wszystkich współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie poszczególnych prac znajdują się w Załączniku 6

² Punkty MNiSW zgodnie z Załącznikiem do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 17 grudnia 2013 r.

Sumaryczny Impact Factor wyżej wymienionych publikacji wynosi **5.753**. Sumaryczna liczba punktów MNiSW (zgodnie z aktualną punktacją wg wykazu MNiSW z dnia 17 grudnia 2013 r. oraz rozporządzenia MNiSW z dnia 13 lipca 2012 r.) wynosi **110**.

b) Omówienie osiągnięcia naukowego

Rodzaj *Epipactis* opisany przez niemieckiego botanika Johanna Zinna w 1757 roku to jeden z najciekawszych i zarazem najbardziej problematycznych taksonów należących do plemienia Neottieae w obrębie rodziny storczykowatych (Orchidaceae). Liczy ok. 70 gatunków, występujących w północnej i środkowej Afryce, Azji, Europie i Ameryce Północnej.

Rodzaj *Epipactis* należy do trudnych i kontrowersyjnych taksonomicznie, z uwagi na duży i jednocześnie słabo rozpoznany zakres zmienności fenotypowej (głównie ontogenetycznej), utrudniający poprawną identyfikację gatunków. Zmienność dotyczy cech okwiatu, w tym szczególnie kształtu i wybarwienia warzki, ale także kształtu i wielkości prętosłupa (gynostemium) oraz wielkości, kształtu i wybarwienia liści, co z kolei utrudnia ustalenie cech diagnostycznych dla gatunków.

Grupa do której należy rodzaj *Epipactis* znajduje się obecnie w szczególnie intensywnej fazie specjacji, co potwierdzają badania genetyczne i morfologiczno-anatomiczne. Niski stopień izolacji reprodukcyjnej oraz słabe bariery genetyczne między taksonami dodatkowo potwierdzają młody wiek grupy, co zresztą znajduje potwierdzenie w obserwowanej często w warunkach naturalnych hybrydyzacji zarówno wewnątrzgatunkowej, międzygatunkowej, jak i międzyrodzajowej.

Wszystkie gatunki należące do tego rodzaju to byliny kłączowe o wzroście klonalnym, charakteryzujące się zjawiskiem tzw. „fluktuacji pojawu” polegającym na wytwarzaniu w ciągu kolejnych sezonów wegetacyjnych zmiennej liczby ramet (pędów), co utrudnia oszacowanie rzeczywistej wielkości populacji oraz stopnia ich zagrożenia. Przyczyny tego zjawiska jak dotąd nie zostały jednoznacznie wyjaśnione.

Kruszczyki cechuje również zdolność do adaptacji w różnych warunkach siedliskowych. Szeroka amplituda ekologiczna taksonów stwarza duże możliwości do wkraczania na siedliska nietypowe, w tym antropogeniczne, jak np. leśne przydroża, parki miejskie, nasypy kolejowe, czy nawet hałdy pokopalniane. Kruszczyki szczególnie chętnie zasiedlają cmentarze, pobocza dróg, torowisk, a także występują w monokulturach topolowych i świerkowych. Dotychczas zjawisko apofityzacji opisano u kruszczyka szerokolistnego (*E. helleborine* (L.) Crantz), rdzawoczerwonego (*E. atrorubens* (Hoffm.) Besser) i błotnego (*E. palustris* (L.) Crantz).

Rodzaj *Epipactis* charakteryzuje się bardzo ciekawą biologią zapylania. Większość gatunków z tego rodzaju wytwarza bogaty w cukry i aminokwasy nektar, zawierający również związki odurzające i narkotyczne, w tym morfiniany i liczne alkohole oraz ich estry, bezpośrednio odpowiedzialne za efekt tzw. „pijanych owadów”, polegający na obserwowanych widocznych zaburzeniach w locie owadów odwiedzających kwiaty. Zapyłania gatunków z rodzaju *Epipactis* dokonują głównie przedstawiciele Hymenoptera, Diptera oraz Coleoptera, choć w różnych typach siedlisk obserwujemy zmiany w proporcji poszczególnych grup owadów. Ważną i zarazem problematyczną kwestią w przypadku badań zapylania kruszczyków jest odróżnienie tzw. „kwiatowych gości” (ang. flower visitors), czyli owadów spotykanych przypadkowo, niezwiązanych bezpośrednio z biologią zapylania, a np. żywiących się sokiem roślin zielnych lub spadzią wydzielaną przez szczególnie często bytujące na *Epipactis* sp. mszyce, czy będących drapieżnikami polującymi właśnie na owady odwiedzające storczyki, od faktycznych zapyłaczy (ang. true pollinators). Bardzo często zdarza się, iż „kwiatowy gość” uczestniczy w transporcie pyłku, stając się przypadkowym wektorem.

Badania rodzaju *Epipactis* rozpoczęłam na etapie studiów magisterskich, prowadzonych w Zakładzie Ekologii i Ochrony Przyrody UWr. pod kierunkiem śp. Prof. dr hab. Jana Sarosieka. Zajmowałam się wówczas tzw. „konstytucją ekologiczną” dwóch gatunków storczyków, tj. *E. helleborine* i *E. atrorubens*, pochodzących z różnych populacji na terenie Polski. Badania te pozwoliły mi poznać podstawowe techniki i narzędzia badawcze stosowane w naukach przyrodniczych, szczególnie w zakresie ekologii roślin, które wykorzystałam w późniejszych badaniach prowadzonym w ramach studiów doktoranckich. Po ukończeniu studiów magisterskich zmieniłam profil zainteresowań przechodząc do ówczesnego Zakładu Systematyki i Fitosocjologii Uniwersytetu Wrocławskiego, gdzie pod kierunkiem Prof. dr hab. Jadwigi Anioł-Kwiatkowskiej nadal realizowałam interdyscyplinarne badania nad rodzajem *Epipactis* na terenie Dolnego Śląska.

Uzyskane w trakcie studiów doktoranckich bardzo ciekawe wyniki badań stworzyły podwaliny do kontynuowania kariery naukowej po obronie pracy doktorskiej. Prowadzone przeze mnie badania miały charakter wielowątkowy, dotyczyły różnych aspektów biologii i ekologii rodzaju, począwszy od kontynuowania badań z zakresu zmienności fenotypowej, po przez analizę tempa i kierunkowości wzrostu klonalnego, następnie badania taksonomiczne obejmujące analizę cech diagnostycznych (fenotypowych i molekularnych), skończywszy na

kompleksowych badaniach biologii zapylania połączonych z analizą składu chemicznego nektarów oraz analizą fauny odwiedzającej i zapylającej kruszczyki.

Moje badania doprowadziły do wielu odkryć oraz uzupełniły znacząco stan wiedzy na temat biologii i ekologii gatunków z rodzaju *Epipactis*.

Poniżej przedstawiłam chronologiczne omówienie najważniejszych osiągnięć zawartych w publikacjach włączonych do cyklu habilitacyjnego.

Pierwsza z przedstawionego do oceny cyklu prac (**Jakubska-Busse, 2008, Polish *Taxonomical Monographs*, Wrocław, 15: 85-92**) zawiera wyniki wstępnych badań nad zjawiskiem plastyczności fenotypowej kruszczyka szerokolistnego (*Epipactis helleborine*) w aspekcie znaczenia w taksonomii, zwłaszcza w procesie identyfikacji gatunków.

Plastyczność morfologiczna (fenotypowa), a więc zdolność genotypu do modyfikacji fenotypu pod wpływem warunków środowiska, jest procesem, za który odpowiedzialne są trzy grupy genów: geny wrażliwości allelicznej, geny plastyczności oraz geny transdukcji, ale także prawdopodobnie zróżnicowana regulacja genów homeotycznych typu MADS-box. Co ważne, zmienność fenotypowa może być również skutkiem mutacji somatycznych zachodzących w rametach jednego osobnika (genetu).

Rodzaj *Epipactis* Zinn, 1757 należy do tzw. taksonów krytycznych. Według dostępnych danych liczy około 70 gatunków. Cechą ogromnej większości z nich jest duży zakres plastyczności fenotypowej dotyczący zarówno cech kwiatu (kształtu i wybarwienia elementów okwiatu), jak i liści. W trakcie prowadzonych długoletnich badań wykazałam, iż bazowanie w badaniach taksonomicznych jedynie na materiale zielnikowym może doprowadzić do błędnych diagnoz, lub wyróżniania nowych taksonów, co do których zasadności istnieją poważne wątpliwości. Porównanie preparatów mikroskopowych wykonanych ze świeżego materiału z preparatami wykonanymi z eksykatów zielnikowych pochodzących z tych samych osobników doprowadziło do zaskakujących wniosków. Duży zakres błędnych diagnoz taksonomicznych wynika z odkształceń prętostłupa podczas procesu suszenia materiału lub nieuwzględniania w badaniach zjawisk dotyczących biologii rozwoju tego organu.

Niezwykle korzystną dla badań plastyczności morfologicznej cechą badanych roślin jest ich klonalność, gdyż pozwala na badanie wpływu odmiennych czynników, głównie ekologicznych, takich jak m.in. skład podłoża, czy naświetlenie siedliska, na ten sam genotyp. Rodzaj *Epipactis* spełnia ten warunek, gdyż jest rodzajem roślin tworzących system rozgałęzionych kłączy, a

poszczególne pojawiające się nad ziemią pędy nie są zazwyczaj odrębnymi osobnikami, lecz należą do jednego osobnika (genetu). Zjawisko plastyczności fenotypowej ma fundamentalne znaczenie w procesie adaptacji gatunków do zmieniających się w czasie warunków siedliskowych. Obecnie popularna jest hipoteza, iż selekcja naturalna faworyzuje bardziej plastyczne genotypy, które łatwo adaptują się do zmian środowiska.

Uzyskane przeze mnie w trakcie badań wyniki wskazują, iż zasadne jest dokonanie weryfikacji istniejącej obecnie systematyki rodzaju *Epipactis* przy użyciu różnych technik analizy DNA, zwłaszcza w przypadku kompleksu *E. helleborine* s.l. Prowadzone przeze mnie w warunkach terenowych badania zakresu zmienności barwy i kształtu kwiatów wykazały, iż wyróżnianie taksonów niższych od gatunku jedynie na podstawie morfologii kwiatu nie jest właściwe. Zmienna jest bowiem nie tylko barwa elementów okwiatu, ale także ich cechy metryczne, zarówno w obrębie jednego pędu, jak i całego genetetu, co bezpośrednio wynika z ich wieku. Kwiaty zlokalizowane w części szczytowej pędu są zwykle mniejsze, ponieważ są najmłodsze; najstarsze kwiaty, umieszczone u podstawy kwiatostanu są zwykle największe i najbardziej okazałe, zwykle też najintensywniej wybarwione.

Wyniki niniejszych badań, mimo iż te miały charakter wstępny doprowadziły w konsekwencji do znaczących odkryć, w tym rewizji kontrowersyjnych taksonów oraz synonimizacji *E. pseudopurpurata* i *E. purpurata*.

Kolejna praca włączona do cyklu habilitacyjnego dotyczy problemu fluktuacji pojawu pędów oraz próby opracowania metody (innej niż metody molekularne) określenia granic genetów w warunkach naturalnych (**Jakubská-Busse *et al.* 2008, *Botanica Helvetica* 119: 69-76**).

Jednym z najpoważniejszych problemów, na jakie napotykają badacze gatunków klonalnych w trakcie badań terenowych, stanowi problem wyróżnienia indywidualnych genetów (klonów), z jakich składa się populacja. W przypadku wielu zagrożonych gatunków trudność związana jest z tym, iż posiadają one status roślin chronionych, co nie pozwala na bezpośrednią obserwację poprzez wykopanie kłączy. Zresztą odsłonięcie lub wykopanie pędu (kłącza) stanowi duże ryzyko dla dalszego rozwoju roślin, uniemożliwiając prowadzenie wieloletnich badań. Opracowana przez nas metoda badań pozwala na weryfikację danych uzyskanych innymi metodami, np. molekularnymi, których wyniki mogą być trudne w interpretacji, z uwagi m.in. na dużą ilość mutacji somatycznych nagromadzonych w obrębie genetetu.

W pracy prezentuję zastosowanie modelu Minimalnego Drzewa Rozpinającego (ang. The Minimum Spanning Tree) znanego z teorii grafów w powiązaniu z wzorami zaczerpniętymi z

analizy wariancji do opisu rozwoju podziemnego kłączy, stworzonego na bazie zmian w corocznym układzie ramet na polu badawczym. Metoda ta z powodzeniem może być zastosowana do wielu innych gatunków klonalnych. Model matematyczny pozwala oszacować zakres zmian demograficznych pędów w następujących po sobie sezonach wegetacyjnych oraz ustalić kierunek wzrostu kłączy. Jest to metoda absolutnie nieinwazyjna dla roślin, wymaga jedynie systematycznego kartowania rozkładu ramet. W celu ilustracji metody w pracy zaprezentowano jej praktyczne zastosowanie dla przykładowej populacji *Epipactis helleborine* (L.) Crantz; wynikiem analizy jest hipotetyczna struktura podziemnych połączeń kłączy, obrazująca rozwój populacji.

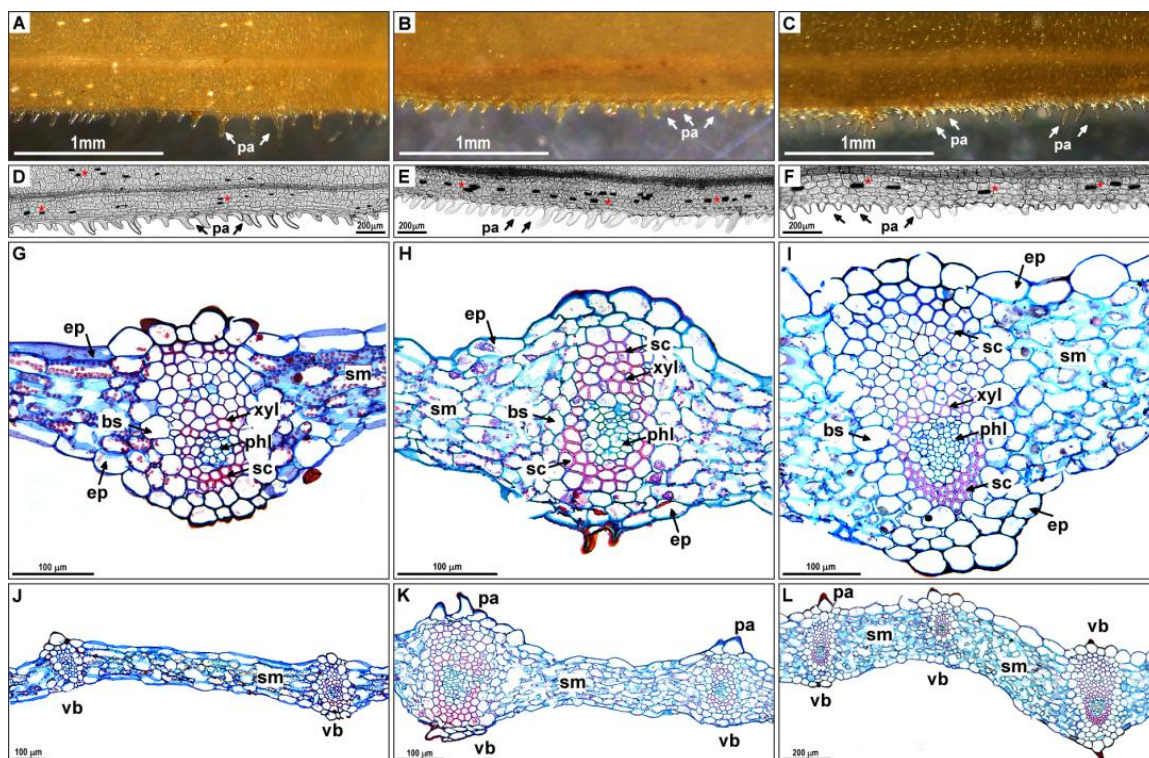
Główne założenia metody przedstawiono w formie referatu na Krajowej Konferencji Zastosowania Metod Matematycznych w Biologii i Medycynie, która odbyła się w dn. 26-29 września 2006 r. w Koninkach, gdzie wzbudziła spore zainteresowanie i dyskusję wśród uczestników. Dane opublikowano również w materiałach pokonferencyjnych.

Kolejny artykuł składający się na cykl habilitacyjny dotyczy krytycznej analizy cech taksonomicznych używanych do identyfikacji form mieszańcowych *Epipactis* sp., na przykładzie najczęściej spotykanego mieszańca międzygatunkowego w obrębie rodzaju, tj. kruszczyka Schmalhausena *Epipactis ×schmalhausenii* Richt. (**Jakubska-Busse, Gola 2010, Acta Soc. Bot. Pol. 79.3: 207-213**).

W pracy zaprezentowałam wyniki przeprowadzonych analiz cech morfologiczno-anatomicznych pomocnych przy identyfikacji *E. ×schmalhausenii*. Zbadałam, m.in. kształt i rozmieszczenie brodawek (*papillae*) na brzegu blaszki liściowej, a także na nerwach głównych, oraz strukturę blaszki liściowej (ryc. 1). Ustaliłam bezspornie, iż cechy mają charakter zmienny, podobnie jak u osobników rodzicielskich. Poprawna identyfikacja *Epipactis ×schmalhausenii* Richt. możliwa jest jedynie na podstawie zespołu wielu cech, zarówno morfologicznych, jak i anatomicznych. Stwierdziłam bardzo duży zakres zmienności w kształcie komórek brodawkowatych (*papillae*) na brzegu blaszki liściowej, co poddaje w wątpliwość zasadność wykorzystywania tej (bardzo popularnej) cechy, jako istotnej taksonomicznie w obrębie rodzaju (ryc. 1). Ponadto wykazałam bezzasadność używania w diagnostyce gatunków, podawanej m.in. przez Delforge'a (2006)³ cechy taksonomicznej, jaką jest obecność włosów hialinowych na brzegu blaszki liściowej, ponieważ zarówno u mieszańca, jak i gatunków rodzicielskich włosy takie w ogóle nie występują.

³ Delforge P. 2006. Orchids of Europe, North Africa and the Middle East. Timber Press Inc., Oregon, USA

Ustaliłam ponadto, iż powstałe osobniki mieszańcowe mogą znaczenie różnić się fenotypowo, co wynika m.in. z zasad dziedziczenia mitochondrialnego. Możliwe są dwa sposoby powstawania kruszczyka Schmalhausena, tj. zapylenie kwiatów *E. helleborine* pyłkiem *E. atrorubens*, oraz sytuacja odwrotna, tj. zapylenie *E. atrorubens* pyłkiem *E. helleborine*. Sposób powstawania mieszańca ma istotne znaczenie, gdyż utrudnia precyzyjne ustalenie cech hybrydy, które mogłyby się znaleźć np. w kluczach do oznaczania.



Ryc. 1. Mikromorfologia i anatomia liścia: *E. helleborine* (A, D, G, J), *E. xschmalhauseni* (B, E, H, K) and *E. atrorubens* (C, F, I, L). A-C – widok krawędzi liścia z charakterystycznymi brodawkami (papillae) (papillae zaznaczono strzałkami). D-F – powiększone komórki wraz z widoczną krawędzią liścia (brodawki, pa, zaznaczono strzałkami). Charakterystyczne rafidy z idioblastami oznaczono czerwonymi gwiazdkami. G-L - przekrój przedstawiający ogólną anatomię liścia (G,L) oraz powiększonych wiązek przewodzących (G,I). Wszystkie liście na prezentowanych zdjęciach zorientowane w stronę doosiową. Objaśnienia: bs - wiązka przewodząca, ep - epiderma, pa - brodawki, sc - sklerenchyma, sm – miękisz gąbczasty mezofilu, xyl - ksylem.

Na podstawie: Jakubska-Busse A., Gola E. M. 2010. Acta Soc. Bot. Pol. 79.3: 207-213.

Kolejną pracą włączoną do dorobku habilitacyjnego jest synteza wieloletnich badań dotyczących kompleksowej biologii i ekologii zapylania trzech gatunków z rodzaju *Epipactis* Zinn, 1757 występujących naturalnie na terenie Europy, tj. *Epipactis atrorubens* (Hoffm.) Besser, *E. purpurata* Sm. oraz *E. palustris* (L.) Crantz (Jakubska-Busse, Kadej 2011, Acta Soc. Bot. Pol. 80. 1: 49-57). Badania, których efekt przedstawiono w publikacji, przeprowadzono w ramach projektu stanowiącego kontynuację wstępnych badań nad biologią i ekologią zapylania *Epipactis*

helleborine. Badania wstępne przeprowadzono w ramach studiów doktoranckich, a ich wyniki znacząco uzupełniono w projekcie, którego rezultatem była ww. publikacja.

Interdyscyplinarne badania prowadziłam na terenie Europy Środkowej, głównie w Polsce, Czechach oraz na Litwie. Obejmowały one analizę entomofauny odwiedzającej (tzw. „kwiatowych gości”) i zapylającej kwiaty kruszczyków oraz analizę GC-MS wydzielanego przez storczyki nektaru pod kątem potencjalnych atraktantów. Na podstawie wyników wieloletnich badań wraz z dr inż. M. Kadejem sporządziłam i opublikowałam listę zapylaczy oraz owadów odwiedzających badane gatunki storczyków, a także ustaliłam, iż badane gatunki różnią się emitowanym zapachem. Ponadto wykazałam, iż rodzaj zapylaczy zależy od lokalizacji i rozmiarów populacji storczyków oraz bezpośrednio warunków pogodowych, jakie panują w siedlisku. Skład entomofauny odwiedzającej i zapylającej storczyki może być różny w kolejnych sezonach wegetacyjnych, co wskazuje, iż badania nad biologią zapylania powinny mieć charakter długoterminowy. Zjawisko autogamii w niektórych populacjach badanych gatunków *Epipactis*, m.in. *E. purpurata* może być wynikiem niedoboru potencjalnych zapylaczy w jego siedliskach o charakterze sezonowym lub stałym.

Do grupy zapylaczy właściwych kruszczyka rdzawoczerwonego (*E. atrorubens*) zaliczyłam: *Episyrphus balteatus* (De Geer, 1776) (Syrphidae, Diptera), przedstawicieli Hymenoptera (Apidae): *Bombus lucorum* (Linnaeus 1761), *Bombus hortorum* (Linnaeus 1761), oraz *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. Do grupy tzw. „kwiatowych gości”, a więc owadów niezwiązanych bezpośrednio z przenoszeniem pyłków, lecz zwykle żywiących się nektarem zaklasyfikowaliśmy: *Myrmica rubra* (Linnaeus 1758) oraz *M. schencki* Viereck, 1903 (Formicidae).

Kruszczyk błotny (*E. palustris*) jest gatunkiem najczęściej i najliczniej odwiedzanym przez owady. Do grupy zapylaczy tego taksonu na podstawie wieloletnich badań terenowych zaliczyłam: Hymenoptera (Aculeata): *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Apidae), *Bombus lapidarius* (Linnaeus 1758) (Apidae), *Bombus lucorum* (Linnaeus 1758) (Apidae) oraz Diptera: *Empis livida* Linnaeus 1758 (Empididae), *Episyrphus balteatus* (De Geer 1776) (Syrphidae), *Cetema cereris* (Fallén 1820) (Chloropidae), *Chloromyia formosa* (Scopoli 1763) (Stratiomyidae). Grupę „kwiatowych gości” mogących przypadkowo przyjąć funkcję zapylaczy stanowią: Diptera: Calyptrata sp. (Muscidae), Coleoptera: *Anomala dubia* (Scopoli 1763) (Scarabaeidae), *Cantharis pellucida* Fabricius 1792 (Cantharidae), *Rhagonycha fulva* (Scopoli 1763) (Cantharidae), *Gaurotes virginea* (Linnaeus 1758) (Cerambycidae), *Oedemera femorata* (Scopoli 1763) (Oedemeridae), oraz przedstawiciele Lepidoptera: *Ochlodes sylvanus* (Esper, 1777) (Heperiidae) i *Aphantopus hyperantus* (Linnaeus 1759) (Nymphalidae).

Kruszczyk siny w badanych populacjach okazał się gatunkiem odwiedzanym i zapylanym głównie przez osowate (Vespidae, Hymenoptera), tj. *Vespa vulgaris* (Linnaeus 1758), *Vespa austriaca* (Panzer 1799) oraz pszczołowate (Apidae, Hymenoptera): *Bombus lucorum* (Linnaeus 1758) i *Bombus hypnorum* (Linnaeus 1758). Duże znaczenie w przypadku niektórych badanych populacji ma *Coccinella septempunctata* Linnaeus, 1758 (Coccinellidae, Coleoptera), którą często obserwowałam w trakcie przenoszenia pyłków. *E. purpurata* jest również często odwiedzany i zapylany przez gatunek uznawany jednak powszechnie za uniwersalnego zapylacza roślin kwiatowych, tj. *Episyrphus balteatus* (De Geer 1776) (Diptera, Syrphidae).

W charakterze przypadkowych zapylaczy badanych gatunków *Epipactis* obserwowałam również przedstawicieli Heteroptera (Miridae): *Liocoris tripustulatus* (Fabricius 1781) i *Lygus pratensis* (Linnaeus 1758). Owady te są fitofagami, żywią się sokami roślinnymi, stąd ich obecność na pędach.

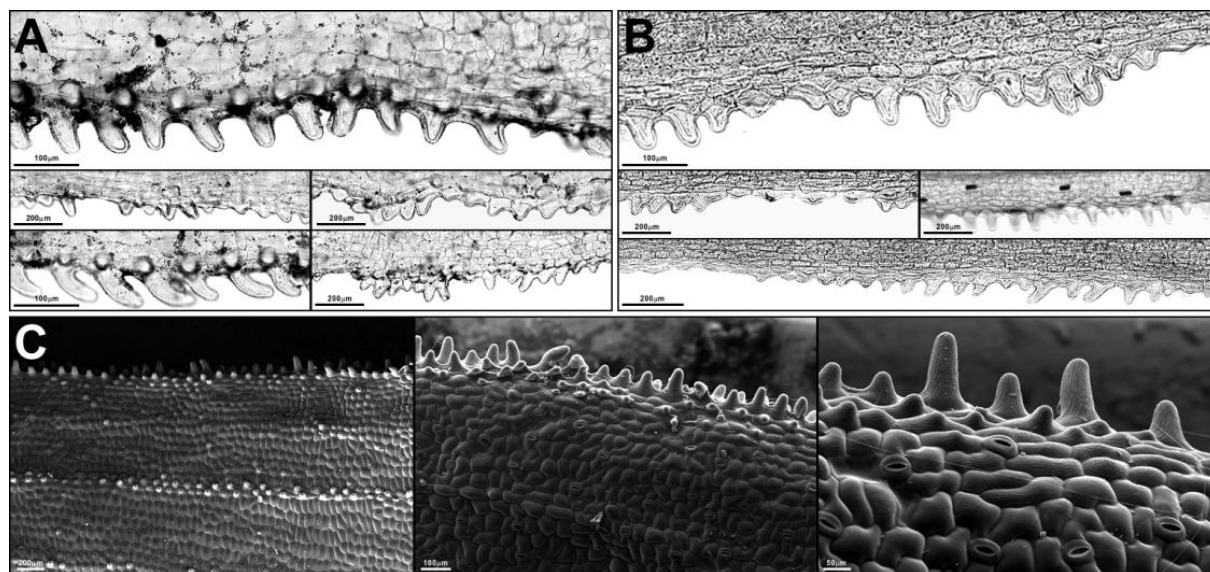
Wykonane przeze mnie analizy chemiczne potwierdzają, iż badane gatunki różnią się składem chemicznym wytwarzanego nektaru. Wszystkie gatunki produkują nektar bogaty w liczne alkohole i estry – są to substancje atrakcyjne dla zapylających je przedstawicieli osowatych (Vespidae). W nektarze kruszczyka rdzawoczerwonego zidentyfikowałam wanilinę oraz: 2-metoksy-4-metylofenol, a także dwa związki, których nie stwierdzono u pozostałych gatunków, tj. 3,4-dimetoksytoluen oraz eter bis-(3,5,5-trimetyloheksyloxy). Nektar *E. palustris* jest znacznie bogatszy w związki chemiczne, niż u *E. purpurata*, zawiera m.in. liczne estry metylowe, ale także alkohole, które kształtują specyficzny zapach. Co ciekawe, dotychczas uważano iż *Epipactis palustris* nie wydziela nektaru (Szlachetko, Skakuj 1996)⁴ – w trakcie badań terenowych bezsprzecznie potwierdziłam i udokumentowałam sekrecję u tego gatunku.

Głównymi atraktantami zawartymi w nektarze *E. palustris* są: nonanal, dekanal, eikozanol oraz ich pochodne. Skład nektaru kruszczyka błotnego jest bardzo podobny do składu nektaru kruszczyka rdzawoczerwonego, co może tłumaczyć obecność wspólnych grup zapylaczy. Nektar *E. purpurata* jest uboższy pod względem występowania związków chemicznych, niż nektar pozostałych kruszczyków. Gatunek wytwarza ponadto zdecydowanie odmienny zapach kształtowany głównie przez estry oraz aldehydy i ich pochodne. Odmienny chemizm zapachu może być również uwarunkowany specyficznymi warunkami edaficznymi oraz niedoborem światła w siedliskach. W nektarze tego gatunku występują bardzo interesujące związki, m.in. 2-pentylofuran, heksahidropirymidyna, 1-metylo-2-pirolidon, czy 2-(cyklopentyloksy) etanol.

⁴ Szlachetko D. L., Skakuj M. 1997. Storzycy Polski. Sorus, Poznań

Badania te realizowałam w ramach grantu wewnętrznego Uniwersytetu Wrocławskiego nr 2557/W/IBR oraz projektu własnego MNiSW nr N N303 002737.

Kolejną pracą włączoną do cyklu habilitacyjnego jest publikacja przygotowana w ramach interdyscyplinarnego projektu, który miał na celu weryfikację statusu taksonomicznego *Epipactis pseudopurpurata* (Jakubka-Busse *et al.*, 2012, *Bot. J. Linn. Soc.* 170: 243-256). Na podstawie interdyscyplinarnych badań dotyczących m.in. analizy budowy prętosłupa (gynostemium), analizy kształtu i rozmieszczenia komórek brodawkowatych na brzegu blaszki liściowej (cecha uznawana za taksonomicznie istotną w obrębie całego rodzaju *Epipactis*), analizy anatomicznej pędów, oraz badań genetycznych przeprowadzonych na markerach jądrowych (ITS1-5.8S-ITS2), plastydowych: *matK*-5'*trnK*^(UUU), *rpl32-trnL*^(UAG), *trnQ*^(UUC)-5'*rps16*, *trnH*^(GUG)-*psbA*, *trnS*^(GCU)-*trnG*^(UCC)-*trnG*^(UCC) oraz intronach: *rpl16* i *trnL*, a także szeroko rozumianych badań biologii zapylania, dokonałam synonimizacji *Epipactis pseudopurpurata* Mered'a fil. z *Epipactis purpurata* Sm. Analiza porównawcza podstawowych cech diagnostycznych dla *Epipactis pseudopurpurata* (zgodnie z jego protologiem) oraz *E. purpurata*, ujawniła, że identyfikacja gatunku w oparciu o cechę jaką jest brak lub zanik *viscidium*, nie jest właściwa, gdyż brak tej struktury jest typowy i charakterystyczny dla młodych ramet *E. purpurata*, jak również może być efektem jego przypadkowego usunięcia przez odwiedzające kwiaty owady. Również morfologia gynostemium jest podobna u obu badanych gatunków, a obserwowane niewielkie różnice w jego kształcie są wynikiem plastyczności morfologicznej taksonu. Moje badania po raz kolejny potwierdziły hipotezę o małym znaczeniu dla taksonomii rodzaju *Epipactis* rozmieszczenia i morfologii brodawek (*papillae*) zlokalizowanych na brzegu blaszki liściowej oraz na nerwach głównych. U obu badanych taksonów stwierdziłam obecność licznych komórek brodawkowatych różniących się wielkością, kształtem oraz nachyleniem (patrz ryc. 2), nie stwierdziłam także istotnych różnic między badanymi taksonami w budowie pędów. W wyniku przeprowadzanych badań ustaliłam, iż cechy podawane jako diagnostyczne dla *E. pseudopurpurata* mieszczą się w zakresie plastyczności fenotypowej *E. purpurata* i nie dają podstaw do wydzielenia tego taksonu w randze odrębnego gatunku.



Ryc. 2. Morfologia i anatomia *Epipactis purpurata* i *E. pseudopurpurata*. A – *E. pseudopurpurata*; B, C – *E. purpurata*. A, B – krawędź brzegu blaszki liściowej z widocznymi brodawkami różniącymi się kształtem i wielkością; C – zdjęcia wykonane techniką mikroskopii skaningowej (SEM) powierzchni blaszki z widocznymi rzędami brodawek (*papillae*) na nerwach głównych u *E. purpurata*.

Na podstawie: Jakubka-Busse A., Proćków J., Górniak M., Gola E. M. 2012. – Bot. J. Linn. Soc. 170: 243-256.

Ostatnia praca w cyklu habilitacyjnym dotyczy problemu stosowania w taksonomii autogamicznych gatunków z rodzaju *Epipactis* kontrowersyjnej cechy, jaką jest zafalowanie blaszki liściowej, której obecność lub brak prowadzi m.in. do identyfikacji rzadkich taksonów (Jakubka-Busse A., Gola E. M. 2014, *Plant Systematics and Evolution* DOI: 10.1007/s00606-014-0996-x).

Cechy diagnostyczne podawane w kluczach do oznaczania powinny być precyzyjne i w miarę możliwości jednoznaczne, jednak w praktyce zdarza się to niezwykle rzadko. Dokładna analiza cech prętostępu zwykle rozwiązuje wątpliwości dotyczące przynależności gatunkowej okazów, jednak w przypadku cennych, starych arkuszy zielnikowych, zdeponowanych w herbariach, preparacja gnostemium, naruszająca strukturę kwiatów zwykle nie jest możliwa, z uwagi na to, iż dochodzi do uszkodzenia materiału. W takiej sytuacji wskazane byłoby opracowanie zestawu cech pozwalających na nieinwazyjną diagnozę taksonomiczną. Dane literaturowe podają jako rozróżniające gatunki z rodzaju *Epipactis* m.in. cechy dotyczące kształtu liścia, i tak: według Delforge'a⁵ (2006) obecność u okazów liści z pofalowanym brzegiem (ang. „leaves with very undulate margins”) prowadzi do oznaczenia *E. densifolia*, natomiast

⁵ Delforge P. 2006. Orchids of Europe, North Africa and the Middle East. Timber Press Inc., Oregon, USA

cecha przeciwstawna: brak zafalowania liści (ang. „leaves with margins not undulate”) jest typowa dla *E. helleborine*. Według badań innych autorów, tj. Szlachetko i Skakuj⁶ (1996) *E. muelleri* ma: „liście fałdowane, (...)”, natomiast inny blisko spokrewniony gatunek *E. dunensis*, ma: „liście nie fałdowane, (...)”. W tej samej publikacji występują również podobne cechy dla innych gatunków: tj. „liście tępe, nie fałdowane (...)” jako jedna z cech wyróżniająca *E. confusa*, oraz „liście ostre, fałdowane (...)” – jedna z cech prowadzących do oznaczenia *E. phyllanthos* (Szlachetko, Skakuj 1996). Informację o zafalowaniu liści u *E. muelleri* znajdziemy także w publikacji Procházky i Velíška (1983)⁷, Baumann i in. 2006⁸, czy chociażby w popularnym kluczu do oznaczania pod redakcją Rothmalera 2007⁹.

Celem tej pracy było wyjaśnienie przyczyny zafalowania liści u gatunków z rodzaju *Epipactis* oraz określenie, na ile cecha ta może być stosowana w taksonomii, zwłaszcza przy wyróżnianiu rzadkiego w skali Europy - kruszczyka Muellera (*E. muelleri*). W badaniach poddałam analizie liście sześciu gatunków z rodzaju *Epipactis*, reprezentujących różne grupy taksonomiczne wewnątrz rodzaju, tj.: *E. albensis*, *E. atrorubens*, *E. helleborine*, *E. muelleri*, *E. palustris* oraz *E. purpurata*.

Na podstawie badań morfologiczno-anatomicznych powierzchni liści ustaliłam, iż zafalowanie krawędzi blaszki liściowej jest efektem procesów rozwojowych prowadzących do lokalnego rozrostu blaszki liściowej i jest zjawiskiem obserwowanym u wszystkich badanych taksonów (ryc. 3), nie może zatem stanowić cechy rozróżniającej gatunki.

Zjawisko to jest ponadto powszechnie obserwowane u roślin o podobnym kształcie blaszki liściowej.

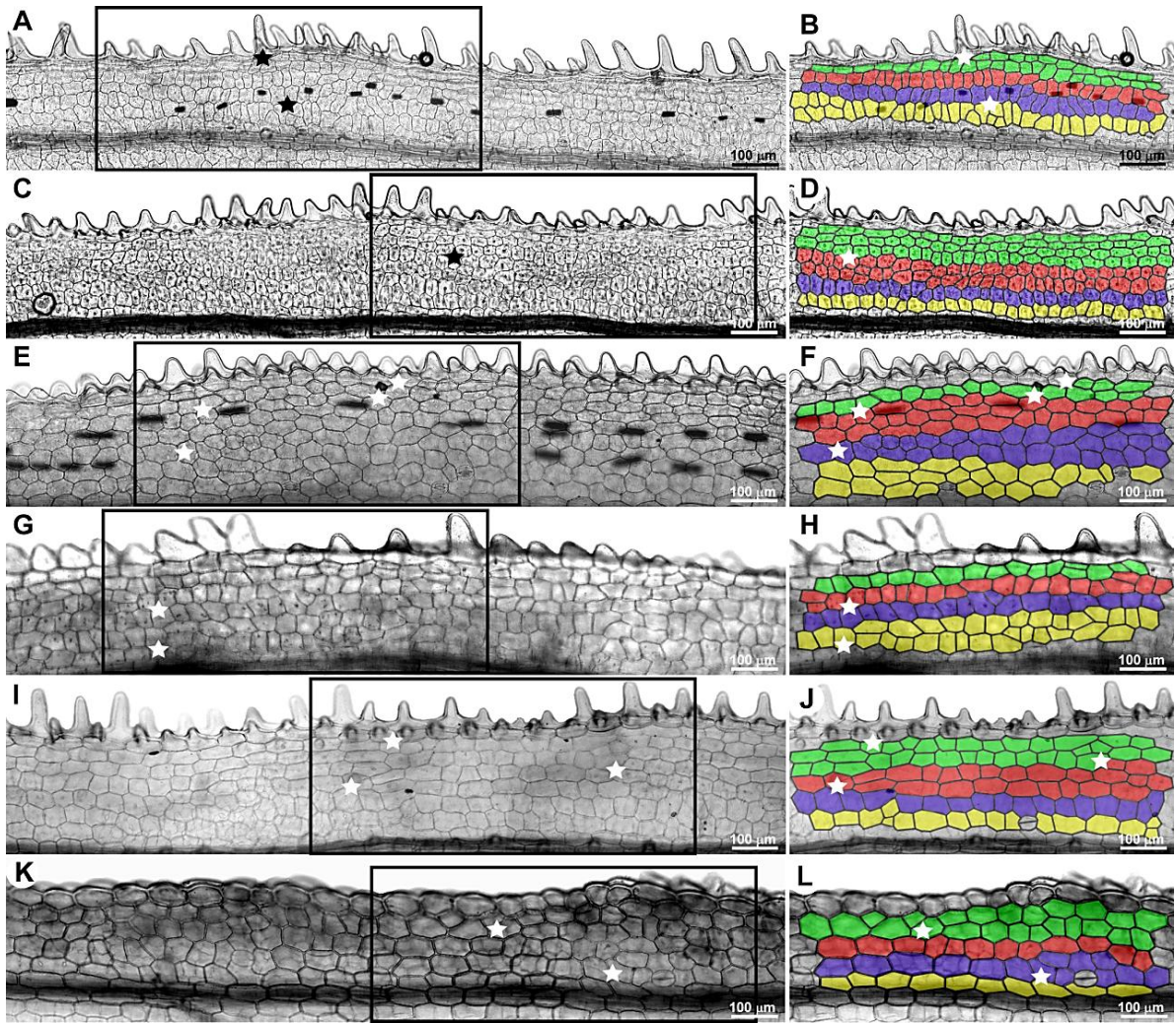
Za podstawową cechą w taksonomii rodzaju uznałam budowę prętostłupa (gynostemium).

⁶ Szlachetko D. L., Skakuj M. 1997. Storzycy Polski. Sorus, Poznań

⁷ Procházka F., Velíšek V. 1983. Orchideje naši přírody. Academia, Prague

⁸ Baumann H., Künkele S., Lorenz R. 2006. Orchideen Europas: mit angrenzenden Gebieten. Eugen Ulmer KG, Stuttgart

⁹ Rothmaler W., Jäger E., Schubert R., Werner K. 2007. Exkursionsflora für die Gebiete der DDR und der BRD, Bd. 3, Atlas der Gefäßpflanzen. Atlasband. 11. Aufl. Spektrum, Heidelberg



Ryc. 3. Fragmenty preparatów mikroskopowych prezentujących powierzchnię brzegu blaszki liściowej (po lewej: A, C, E, G, I, K), oraz interpretację procesów wzrostowych (po prawej stronie: B, D, F, H, J, L). A, B – *E. helleborine*, C, D – *E. muelleri*, E, F – *E. atropurpurea*, G, H – *E. albensis*, I, J – *E. purpurata*, K, L – *E. palustris*. Poszczególne grupy komórek zostały wypełnione kolorami w celu ułatwienia analizy map, ale ich selekcja nie musi odzwierciedlać ich wspólnego pochodzenia. Gwiazdki oznaczają miejsca w sektorach, w których wystąpiły podziały komórkowe.

Na podstawie: Jakubka-Busse A., Gola E. M. 2014. Validation of leaf undulation traits in the taxonomy of *Epipactis muelleri* Godfery, 1921 (Orchidaceae: Neottieae) – Plant Syst Evol. DOI: 10.1007/s00606-014-0996-x

Reasumując, za moje najważniejsze, oryginalne osiągnięcia badań, których wyniki opublikowano w cyklu prac włączonych do osiągnięcia habilitacyjnego uważam:

1. Rozpoznanie zakresu zmienności fenotypowej kruszczyków i znaczenia tego zjawiska w taksonomii, na przykładzie *Epipactis helleborine*.
2. Opracowanie autorskiego modelu matematycznego na bazie modelu Minimalnego Drzewa Rozpinającego (ang. The Minimum Spanning Tree) do opisu kierunkowości wzrostu i rozwoju podziemnego kłączy kruszczyka szerokolistnego (*Epipactis helleborine*), który pozwala na określenie przynależności ramet do konkretnych genotów. Model

stanowi alternatywę dla badań molekularnych i jest metodą nieinwazyjną, która może być zastosowana dla wielu gatunków klonalnych, nie tylko spośród storczykowatych.

3. Opracowanie kompleksowej biologii zapylania trzech gatunków z rodzaju *Epipactis* (*E. atrorubens*, *E. palustris*, *E. purpurata*) łącznie z analizami składu chemicznego nektaru oraz badaniami entomofauny zapylającej i odwiedzającej.
4. Opracowanie zespołu cech przydatnych w identyfikacji hybrydy *Epipactis* *×schmalhauseni* Richt.
5. Rewizję taksonomiczną *Epipactis pseudopurpurata* Mered'a fil. na podstawie badań morfologicznych, anatomicznych, genetycznych oraz badań biologii zapylania.
6. Obalenie poprawności zastosowania w taksonomii gatunków z rodzaju *Epipactis* kontrowersyjnej cechy, jaką jest zafalowanie blaszki liściowej, której obecność lub brak prowadziła dotychczas m.in. do identyfikacji rzadkich taksonów, w tym *E. muelleri*.

Omówienie działalności naukowej i pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Większość znaczących osiągnięć naukowych w moim dorobku naukowym pochodzi z okresu po obronie pracy doktorskiej, jako doktorantka opublikowałam cztery publikacje o charakterze przeglądowym i popularno-naukowym. Swoje badania po obronie pracy doktorskiej rozpoczęłam od kontynuacji zagadnienia dotyczącego poznania biologii zapylania gatunków z rodzaju *Epipactis*.

W latach 2003-2011 przeprowadziłam interdyscyplinarne badania dotyczące biologii zapylania *Epipactis helleborine* (L.) Crantz z uwzględnieniem analiz składu chemicznego nektaru (metodą GC-MS) oraz badania entomofauny oraz fauny towarzyszącej w wybranych populacjach, tym razem już nie tylko na terenie Dolnego Śląska, ale także na terenie innych regionów Polski oraz Czech i Litwy. Badania składu chemicznego nektaru kontynuowałam z wykorzystaniem bardziej czułych technik badawczych, m.in. analizowałam widma chromatograficzne w zakresie jonów charakterystycznych (analiza SIM) dla następujących związków: terpeny, alkaloidy, steroidy i kwasy tłuszczowe - jako substancji najczęściej występujących w różnych materiałach roślinnych. Potwierdziłam obecność w nektarze wszystkich badanych populacji kruszczyka szerokolistnego substancji o charakterze narkotycznym, w tym pochodnych morfiny oraz indolu. Występowanie tego typu związków nie było dotychczas opisywane u Orchidaceae. Do najciekawszych z nich należy zaliczyć: -7,8-didehydro-4,5-epoksy-3,6-d morfinan, -oxykodon (związek znany i taktowany dotychczas, z braku danych, jedynie jako syntetyk), a także -3-{2-{3-

{3-(benzyloxy) propylo}-3 indol, -4-androsteron-3,17, -furanokarboksyaldehyd oraz -2,6-dimetoksy-4-2-propenylofenol.

Prowadzone badania uwzględniały również wpływ składu chemicznego nektaru wydzielanego przez *Epipactis helleborine* (L.) Crantz na zachowanie owadów zapylających i odwiedzających storczyki. W ramach tego projektu prowadziłam obserwacje w kierunku analizy entomofauny odwiedzającej (tzw. „kwiatowych gości”) i zapylającej ten gatunek. W trakcie badań zaobserwowano i zidentyfikowano entomofaunę związaną z kruszczykiem szerokolistnym.

Na podstawie wieloletnich obserwacji zachowania (prowadzonych na licznych stanowiskach na terenie Dolnego Śląska) zidentyfikowane owady podzieliłam na 4 podstawowe grupy:

1. Zapylacze (typowe wektory pyłku) m.in. Hymenoptera (Aculeata: Apidae, Vespidae)
2. Owady odwiedzające (przypadkowe/fakultatywne wektory = potencjalne wektory) np. Coleoptera (Lagriidae, Cantharidae) oraz Diptera (Syrphidae)
3. Bezkręgowce odwiedzające storczyki, lecz nie związane bezpośrednio z biologią zapylania, mowa tu o Heteroptera, Entomophaga, Hymenoptera (Formicidae) oraz pajęczakach
4. Owady związane ze storczykami, poprzez odżywanie się sokami roślinnymi, m.in. Aphididae (*Aphis* sp.) a także Homoptera.

Opracowany na potrzeby opisywanego projektu podział owadów stosowałam konsekwentnie w dalszych badaniach biologii zapylania gatunków z rodzaju *Epipactis* (m.in. Jakubska-Busse, Kadej 2011). Zidentyfikowałam gatunki owadów nieuwzględnione dotychczas w literaturze jako zapylacze właściwe lub potencjalne dla *Epipactis helleborine* (L.) Crantz. Do głównych zapylaczy tego taksonu zaliczyłam: Coleoptera: *Coccinella septempunctata*, *Episyrphus balteatus* oraz Hymenoptera: *Vespa germanica*, *Apis mellifera*, *Psithyrus bohemicus*, *Bombus hortorum*, *B. hypnorum*^{10,11} oraz liczne pszczolinkowate (Andrenidae). Grupę „kwiatowych gości” stanowią: Hemiptera: *Anaspis frontalis*, *Rhagonycha fulva*, *Propylea quatuordecimpunctata*, *Meligethes aeneus*, *Lagria hirta*, *Malachius bipustulatus*, Hymenoptera: *Ichneumon* sp., *Myrmica ruginodis*, *Polistes gallicus*, *Colletes daviesanus*, *Lasioglossum fratellum*, Lepidoptera: *Amata phegea* oraz Diptera: *Asindulum* sp., a także, co ciekawe, przedstawiciele komarowatych, m.in. samce *Culiseta*

¹⁰ **Jakubska A.**, Prządo D., Steininger M., Anioł-Kwiatkowska J., Kadej M. **2005**. Why do pollinators become „sluggish”? Nectar chemical constituents from *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (Orchidaceae). Appl. Ecol. Environ. Res. **3**(2): 29-38.

¹¹ **Jakubska A.**, Kadej M., Prządo D., Steininger M. **2005**. How do orchids lure pollinators? Nectar chemical composition of *Epipactis helleborine* s.l. (Orchidaceae, Neottieae) and its influence on insects reactions in field conditions. Pestycydy **4**: 175-180.

sp., które żywią się nektarem¹². Stwierdziłam ponadto, iż rodzaj zapylaczy zależy od rozmiarów populacji storczyków oraz bezpośrednio warunków pogodowych, jakie panują w siedlisku. Skład entomofauny odwiedzającej i zapylającej storczyki może być różny w kolejnych sezonach wegetacyjnych, co wskazuje, iż badania nad biologią zapylania powinny mieć charakter długoterminowy.

W wyniku prowadzonych szczegółowych badań w latach 1997-2012 zbadałam wraz ze współpracownikami rozmieszczenie i stan zachowania populacji jednego z rzadszych w skali kraju storczyków - *Cypripedium calceolus* na terenie Dolnego Śląska. Dane literaturowe dotyczące flory Dolnego Śląska, pochodzące sprzed 1945 roku wskazywały na bardzo szybkie tempo zmniejszania się liczby stanowisk storczykowatych. Spośród około 30 stanowisk obuwika pospolitego odnotowanych na obszarze Sudetów, 12 było notowanych po 1945 roku, a w trakcie pierwszego etapu naszych badań (1997–2009) udało się potwierdzić i objąć monitoringiem 5 z nich^{13, 14}.

Są to:

1. Grudno - Wapniki (Góry Kaczawskie, Sudety Zachodnie). Gatunek występuje w buczynie storczykowej oraz w bardzo silnie przekształconych zbiorowiskach na siedlisku grądu (w zaroślach) oraz w nasadzeniu świerkowym (na siedlisku buczyny). W czasie badań obserwowano 21 pędów, w tym 14 kwitnących.
2. Miłek/Młyniec (Góry Kaczawskie, Sudety Zachodnie). Obuwik występuje na obrzeżu buczyny storczykowej, w odtwarzających się zaroślach z zachowanymi jeszcze fragmentami powierzchni ciepłolubnych okrajków oraz w zbiorowisku ziołoroślowym z udziałem *Eupatorium cannabinum*. W trakcie badań odnotowaliśmy 45 pędów, w tym 31 kwitnących.
3. Połom (Góry Kaczawskie, Sudety Zachodnie). Na tym stanowisku utrzymują się dwa skupienia gatunku: w buczynie storczykowej oraz zbiorowisku okrajkowym z klasy *Trifolio-Geranietea*. Odnotowaliśmy 52 pędy, w tym 11 kwitnących.
4. Wapniarka (Krowiarki, Sudety Wschodnie). Stanowisko w buczynie storczykowej (*Cephalanthero-Fagenion*), składa się z rozproszonych roślin i liczy 13 pędów, w tym 5 kwitnących. Czynnikiem zagrażającym tej populacji są reaktywacja kamieniołomu,

¹² **Jakubska-Busse A. 2011.** Biologia zapylania wybranych gatunków z rodzaju *Epipactis* Zinn, 1757 (Orchidaceae, Neottieae) w Europie Środkowej – „kwiatowi goście” a faktyczni zapylacze. [W:] Brzosko E., Wróblewska A., Jermakowicz E. (red.). Storczykowate w Polsce: biologia i ochrona, s. 5-11.

¹³ **Jakubska A. 2007.** A new locality of *Cypripedium calceolus* L. in the Krowiarki Mountains (the Eastern Sudety Mts., SW Poland). Čas. Slez. Muz. Opava (A), **56**: 91-93.

¹⁴ **Jakubska-Busse A., Szczęśniak E., Śliwiński M., Narkiewicz Cz. 2010.** Zanikanie stanowisk obuwika pospolitego *Cypripedium calceolus* L., 1753 (Orchidaceae) w Sudetach. Przyroda Sudetów **13**: 43-52.

antropopresja (część okazów rośnie bezpośrednio przy ścieżkach) oraz niewłaściwa gospodarka leśna (w wyniku rębni przerębowej przerzedzono drzewostan i obecnie obserwuje się bardzo gwałtowny rozwój siewek buka, zagłuszających obuwika)

5. Wzgórze na wschód od Słupca (Krowiarki, Sudety Wschodnie). Stanowisko w buczynie storczykowej, w trakcie badań stwierdziliśmy 96 pędów, w tym 12 kwitnących. Obuwik rośnie na stokach południowym i północnym (na ostatnim w buczynie przejściowej między storczykową, a żyzną).

W dalszym etapie badań, które prowadziliśmy w latach 2010-2012 udało nam się potwierdzić jeszcze 4 stanowiska obuwika na Dolnym Śląsku², tj.:

6. Ligota Mała lub Zbytowa koło Bierutowa. Stanowisko to odnaleźliśmy po 80 latach od ostatniej informacji podanej w pracy Schalow'a (1933)¹⁵!
7. Rudy Dół, część północna, czasem błędnie tłumaczona jako Góra Skowronek.
8. Krowiarki, Wzgórza Mielnickie, rozproszone wystąpienia od Mielnika do Piotrowic.
9. Krowiarki, Wzgórza Mielnickie, zbocze Góry Grodowej, tzw. „Babilon”, murawa kserotermiczna.

Obecnie *Cypripedium calceolus* na Dolnym Śląsku występuje na 9 stanowiskach, na których tworzy 14 subpopulacji: jednym niżowym, jednym zlokalizowanym na pogórze Kaczawskim oraz 7 w pasmach górskich Gór Kaczawskich (Sudety Zachodnie) i Krowiarek (Sudety Wschodnie). W górach obuwik rośnie przede wszystkim w piętrze roślinnym pogórze (7 stanowisk), a zaledwie dwa stanowiska zlokalizowane są w reglu dolnym. Nie udało się potwierdzić stanowisk z Przedgórze i Pogórze Sudetów oraz z Sudetów Środkowych. Zdecydowana większość obserwowanych w ostatnich pięciu latach wystąpień obuwika znajdowała się w zbiorowiskach leśnych, głównie w buczynach (storczykowych, żyznych lub o charakterze przejściowym między tymi dwoma zbiorowiskami). *C. calceolus* odnotowaliśmy także na siedliskach dawnych buczyn storczykowych po wymianie drzewostanu na świerkowy. Gatunek rzadziej spotykany jest w zbiorowiskach grądowych – we wszystkich stwierdzonych przypadkach były to zbiorowiska zastępcze lub zdegradowane w wyniku działalności człowieka, powstałe na siedliskach grądów. Na Miłku, Połomie i Wapnikach obserwowałam obuwiki w zbiorowiskach zaroślowych lub zielnych (okrajkowych i ziołoroślowych).

¹⁵ Schalow E. 1933. Die Ergebnisse der schlesischen Phanerogamenforschung im Jahre 1932. – J.-Ber. Schles. Gesell. vaterl. Cultur **105**: 154–173.

Ponadto, w późniejszym okresie, w ramach kontynuacji badań nad stanem zachowania populacji obuwika pospolitego, wraz ze współpracownikami zbadałam zbiorowiska roślinne z udziałem *Cypripedium calceolus* na Dolnym Śląsku¹⁶.

Obecnie, na Dolnym Śląsku, gatunek związany jest przede wszystkim ze zbiorowiskami leśnymi, często o przerzedzonym drzewostanie lub drzewostanie o zaburzonym składzie - występuje w regenerujących się lukach lub w ich bezpośrednim sąsiedztwie. Udział obuwika w warstwie zielnej nie przekracza 5% pokrycia, a często są to pojedyncze pędy (ramety).

Gatunek odnotowano w następujących zbiorowiskach roślinnych:

- Buczyny z podzwiązku *Cephalanthero-Fagenion* Oberdorfer 1957.

Fitocenozy te zidentyfikowaliśmy w Sudetach w paśmie Krowiarek i w Górach Kaczawskich.

Cypripedium calceolus obserwowaliśmy w kompleksach ciepłolubnych, żyznych buczyn na Miłku, Połomie i w Masywie Wapników w Górach Kaczawskich oraz na Wapniarce, a także na bezimiennym wzniesieniu koło Słupca i Wzgórzach Mielnickich w paśmie Krowiarek.

Zdecydowanie najlepiej zachowane są obecnie fitocenozy wykształcone w Krowiarkach:

- W zbiorowiskach nawiązujących do grądu środkowoeuropejskiego *Galio sylvatici-Carpinetum betuli* Oberdorfer 1957.

W fitocenozach grądowych wykonaliśmy 8 zdjęć fitosocjologicznych, dokumentujących płaty z udziałem obuwika, z czego 3 zostały wykonane w Górach Kaczawskich w masywie Wapników, a pozostałe na Nizinie Śląskiej koło Ligoty Małej.

- W murawach kserotermicznych ze związku *Bromion erecti* Koch 1926. Dokumentacja fitosocjologiczna muraw z udziałem obuwika obejmuje dwa zdjęcia wykonane na tym samym stanowisku w odstępie 20 lat - Grodowa Góra, Krowiarki, Wzgórza Mielnickie.

Przeprowadzone przez nas badania są pierwszą kompleksową syntezą stanu zachowania populacji tego rzadkiego gatunku na terenie Dolnego Śląska od czasów badań prowadzonych przez botaników niemieckich, mają też istotne znaczenie aplikacyjne. Obuwik bowiem, jako gatunek objęty ochroną w krajach UE na mocy Dyrektywy Siedliskowej wymaga prowadzenia monitoringu stanu ochrony gatunku oraz siedlisk przyrodniczych w jakich występuje.

Wyniki badań mogą być wykorzystane przez administrację Państwową - RDOŚ, Lasy Państwowe w przygotowywaniu regionalnych planów ochrony gatunku oraz w planach zadań ochronnych na terenie obszarów Natura 2000.

¹⁶ Szczęśniak E., Jakubská-Busse A., Śliwiński M. 2012. Zróżnicowanie i rozmieszczenie zbiorowisk z udziałem *Cypripedium calceolus* L. (Orchidaceae) na Dolnym Śląsku. – Acta Botanica Silesiaca 8: 97-128.

Bardzo interesujące okazały się też wyniki badań, jakie prowadziłam wspólnie z mgr. Michałem Smoczykiem nad historycznym oraz aktualnym rozmieszczeniem storczykowatych w Górach Orlickich¹⁷ oraz Górach Bystrzyckich (Sudety Środkowe)¹⁸.

W wyniku badań terenowych ustaliliśmy aktualną listę storczykowatych Gór Orlickich i Pogórza Orlickiego - liczy ona 13 gatunków. Spośród 27 podawanych w dawnej literaturze taksonów storczykowatych potwierdziliśmy stanowiska 9 gatunków, tj.: *Dactylorhiza majalis*, *D. sambucina*, *Epipactis helleborine*, *Gymnadenia conopsea* subsp. *conopsea*, *G. conopsea* subsp. *densiflora*, *Listera ovata*, *Neottia nidus-avis*, *Orchis mascula* subsp. *signifera*, *Platanthera bifolia* i *P. chlorantha*. Stwierdzono również 4 nowe gatunki dla flory tego obszaru: *Cephalanthera damasonium*, *Dactylorhiza fuchsii*, *Epipactis leptochila* subsp. *neglecta* i *E. muelleri*. Ustaliliśmy, iż status podawanego w literaturze gatunku *Anacamptis pyramidalis* we florze Gór Orlickich i Pogórza Orlickiego jest wątpliwy, natomiast dane o występowaniu na tym obszarze *Orchis pallens* uznaliśmy za prawdopodobnie błędne.

W wyniku badań prowadzonych w Górach Bystrzyckich (Sudety Środkowe) spośród 21 podawanych w literaturze gatunków i podgatunków storczykowatych potwierdziliśmy stanowiska jedynie 12 z nich, tj.: *Coeloglossum viride*, *Dactylorhiza fuchsii*, *D. maculata*, *D. majalis*, *D. sambucina*, *Epipactis helleborine*, *Gymnadenia conopsea* subsp. *conopsea*, *Listera ovata*, *Neottia nidus-avis*, *Orchis mascula* subsp. *signifera*, *Platanthera bifolia*, *P. chlorantha*. Dla wszystkich taksonów sporządziliśmy kartogramy rozmieszczenia oraz oszacowaliśmy zasoby populacyjne i lokalny stopień zagrożenia.

Wyniki przeprowadzonych badań znacząco uzupełniają i uaktualniają stan wiedzy o z zakresu chorologii storczykowatych w Polsce południowo-zachodniej. Mogą być wykorzystane w aktualizacji Atlasu rozmieszczenia roślin naczyniowych w Polsce (ATPOL).

Za cenne osiągnięcie, uzupełniające stan wiedzy na temat biologii storczykowatych, uważam również opisanie przeze mnie niepodawanej dotychczas z terenu Polski, bardzo rzadko spotykanej bezchlorofilowej formy kruszczyka połabskiego (*Epipactis albensis* Nováková et Rydlo). Formę tę zidentyfikowałam w trakcie badań prowadzonych w roku 2005 w rezerwacie „Skarpa Storczyków” koło Orska. Odkrycie to jest bardzo ważne, gdyż do czasu moich badań w literaturze nie istniały żadne dane na temat występowania takich form u gatunków z tej grupy *Epipactis*.

¹⁷ Smoczyk M., Jakubska A. 2004. Rozmieszczenie storczykowatych Orchidaceae w polskiej części Gór Orlickich i Pogórza Orlickiego. – Przyroda Sudetów 7: 41-54.

¹⁸ Smoczyk M., Jakubska A. 2006. Rozmieszczenie storczykowatych Orchidaceae w Górach Bystrzyckich (Sudety Środkowe). – Przyroda Sudetów 9: 47-60.

Wraz ze współpracownikami, opisałam szczegółowo występowanie kolejnego gatunku storczykowatych - *Cephalanthera longifolia* w monokulturze topolowej *Populus xcanadensis* na Wzgórzach Krzyżowych (Dolny Śląsk). Dotychczas w literaturze opisano jedynie masowy pojaw kruszczyków: szerokolistnego i rdzawoczerwonego w tego typu siedliskach¹⁹. Przeprowadzone przeze mnie badania znacznie poszerzyły wiedzę o gatunkach storczyków zdolnych do występowania w leśnych zbiorowiskach zastępczych.

Badałam również, wraz ze współpracownikami, zmiany w rozmieszczeniu stanowisk trzech gatunków z rodzaju *Cephalanthera*, tj. *C. damasonium*, *C. longifolia* i *C. rubra* na terenie Dolnego Śląska²⁰. Celem projektu była odpowiedź na pytanie, czy zmiany w rozmieszczeniu populacji gatunków *Cephalanthera* spp. obserwowane na tym terenie w okresie od 1830 r. do czasów współczesnych wykazują wyraźny związek z wysokością n.p.m. Nasze badania wykazały istotne statystycznie zmiany jedynie w przypadku stanowisk *C. rubra* i *C. longifolia*. Zmiany te nastąpiły jednak na początku XX wieku, a nie jak wstępnie zakładaliśmy, w kilku ostatnich dekadach. Oznacza to, iż nie można ich wiązać z globalnymi przemianami (np. zmianami klimatycznymi w tym ocieplaniem klimatu). Jako główne przyczyny wykazanych zmian w pionowych zasięgach badanych gatunków uznaliśmy przekształcenia krajobrazu związane z modyfikacją użytkowania gruntów, jakie nasiliły się właśnie na przełomie XIX i XX wieku. Dotyczą one przede wszystkim zastępowania lasów liściastych przez monokultury szpilkowe oraz intensyfikacji rolnictwa.

Następnym podjętym przeze mnie problemem badawczym było określenie aktualnego stanu rozmieszczenia i zachowania populacji *Epipactis atrorubens* na Dolnym Śląsku. Kruszczyk rdzawoczerwony jest na tym terenie gatunkiem rzadkim i obecnie posiada status wymierającego (kategoria EN).

W wyniku przeprowadzonych badań okazało się, iż liczne dane niemieckie pochodzące sprzed 1945 roku, a dotyczące rozmieszczenia populacji tego gatunku na terenie Dolnego Śląska są już niestety nieaktualne. Dane powojenne wskazują na dwa centra występowania taksonu - pierwszym z nich były Góry Kaczawskie, gdzie potwierdziłam również występowanie mieszańca między *E. helleborine* i *E. atrorubens*. Drugim centrum występowania natomiast była i jest Kotlina Kłodzka. Na podstawie przeprowadzonych badań ustaliliśmy, iż aktualnie kruszczyk

¹⁹ **Jakubská A.**, Malicka M., Malicki M. **2006**. New data on the apophytic occurrence of *Epipactis helleborine* (L.) Crantz and *Cephalanthera longifolia* (L.) Fritsch in *Populus xcanadensis* plantation in Lower Silesia (south-western Poland). – Biodiversity Research and Conservation, Poznań, **1-2**: 96-98.

²⁰ **Jakubská-Busse A.**, Pielech., Szczęśniak E. **2014**. The extinction of terrestrial orchids in Europe: Does disappearance of *Cephalanthera* Rich., 1817 (Orchidaceae, Neottieae) species show pattern consistent with the elevation gradient? – Life Science Journal **11**(4): 140-144.

rdzawoczerwony występuje na 9 stanowiskach na Dolnym Śląsku, tj.: Szklarska Poręba-Czerwone Skałki, Wojcieszów-Połom, Mysłów-Sobocin, Grudno-Bukowa Góra, Nowe Rochowice, Nowy Waliszów-Skowronek, Żelazno-Wapniarka, Rogóżka i Kletno-Pulinka^{21,22}. Nie udało się go potwierdzić na 16 z dotychczas podawanych lokalizacji. Na podstawie przeprowadzonych badań szacujemy ogólną liczebność kruszczyka rdzawoczerwonego na badanym terenie na ok. 400 ramet. Za centrum występowania gatunku w województwie dolnośląskim uznaliśmy stanowisko w Nowych Rochowicach, gdzie liczba ramet wynosi ok. 200. Odnaleziono tam szczególnie okazałe pędy osiągające ok. 1 m wysokości, co potwierdza optymalne warunki dla rozwoju populacji. Również populacje gatunku w Mysłowie-Sobocinie i Kletnie są stosunkowo liczne, liczą od 50 do 100 ramet. Pozostałe populacje są nieliczne, zawierają do 20 ramet. Na stanowisku w Konradowie-Rogóźnie stwierdziliśmy jedynie 4 ramety, będące obecnie pozostałością po niegdyś licznej populacji.

W ramach studiów nad rozmieszczeniem i stanem zachowania populacji storczykowatych prowadziłam również badania populacji kruszczyka błotnego na Dolnym Śląsku.

Epipactis palustris (L.) Crantz to jeden z najbardziej zagrożonych gatunków storczyków na terenie Dolnego Śląska. Spośród 70 stanowisk podawanych z tego terenu przed 1945 rokiem, obecnie istnieje jedynie 11. Porównanie sytuacji kruszczyka błotnego z Dolnego Śląska z innymi regionami Polski pozwala stwierdzić, że populacje dolnośląskie są w znacznie gorszej kondycji niż zlokalizowane w innych rejonach Polski, ze względu na pogarszające się warunki siedliskowe. Liczba genetów *E. palustris* w istniejących populacjach zmniejsza się, co wskazuje na konieczność wprowadzenia ochrony czynnej. W opublikowanym artykule podaliśmy wykaz stanowisk historycznych oraz aktualnie istniejących a także zagrożenia dla istniejących populacji²³. Zestawienie to umożliwia prześledzenie tempa zaniku populacji oraz określenie zmian liczebności populacji i samych stanowisk w czasie, co z kolei jest istotne w określaniu tempa przemian flory w aspekcie regionalnym.

Kolejnym interesującym zagadnieniem badawczym, które realizowałam były prowadzone w latach 1999 - 2010 badania nad rozmieszczeniem i stanem zachowania populacji

²¹ Pielech R., Jakubka-Busse A. 2010. Nowe stanowisko kruszczyka rdzawoczerwonego *Epipactis atrorubens* (Hoffm.) Besser (Orchidaceae, Neottieae) w Karkonoszach. – Acta Bot. Siles. 5: 99-106

²² Jakubka-Busse A., Śliwiński M. 2010. Aktualny stan rozmieszczenia i zachowania populacji *Epipactis atrorubens* (Hoffm.) Besser (Orchidaceae) na Dolnym Śląsku. – Fragm. Flor. Geobot. Polonica 17(2): 253-259.

²³ Jakubka-Busse A., Śliwiński M. 2011. Kruszczyk błotny *Epipactis palustris* w województwie dolnośląskim – występowanie, zagrożenia i zalecenia dla ochrony. Chrońmy Przyr. Ojcz. 67(6): 519-526.

storczykowatych na terenie Wrocławia (w ramach badań nad florą Wrocławia)²⁴. W wyniku przeprowadzonych badań ustaliłam, że aktualnie na tym terenie występują trzy gatunki storczykowatych tj. *Epipactis helleborine*, *E. albensis* oraz *Dactylorhiza majalis*. Potwierdziłam występowanie *E. helleborine* na terenie Parku Zachodniego, Parku Szczytnickiego, Lasu Rędziańskiego, Lasu Strachocińskiego i Lasu Osobowickiego. Liczebność populacji jest niewielka, waha się w przedziale od kilku do kilkunastu pędów (ramet). Duże populacje kruszczyka szerokolistnego, liczące kilka tysięcy ramet możemy nadal odnaleźć w okolicach wsi: Siechnice, Zakrzów k. Jelcza-Laskowic, Kotowice, Czernica i Siedlce znajdujących się blisko aglomeracji Wrocławia. Najprawdopodobniej mamy tu do czynienia z jedną megapopulacją. Na terenie Parku Zachodniego we Wrocławiu potwierdziłam obecność rzadkiego w skali kraju kruszczyka połabskiego (*Epipactis albensis* Nováková et Rydlo). Jest to najprawdopodobniej jeden genotyp, wytwarzający w zależności od warunków, jakie panują w sezonie wegetacyjnym od 3 (2005 r.) do 7 (2008 r. i 2010 r.) ramet. Gatunek ten występuje wzdłuż koryta Odry, również w rejonie wsi Czernica, gdzie obserwowałam od 3 (2005 r.) do 12 (2009 r.) ramet. Ponadto na terenie Wrocławia zlokalizowałam populacje stoplamka szerokolistnego *Dactylorhiza majalis* m.in. w rejonie osiedla Zakrzów. W roku 2003 populacja ta liczyła 25 osobników, w sezonie 2010 odnotowałam ich jedynie 15. Nadal aktualne jest stanowisko *D. majalis* znajdujące się na obrzeżach miasta Wrocławia i gminy Święta Katarzyna, na terenie użytku ekologicznego Bieńkowice, szczegółowo opisane przeze mnie w 2003 r. Populacja ta jest raczej niezagrożona, liczy ok. 40 osobników, choć w trakcie badań obserwowałam duże zmiany liczebności w poszczególnych sezonach wegetacyjnych uwarunkowane prawdopodobnie zmiennymi warunkami pogodowymi. W roku 2001 odnotowałam 40 kwitnących egzemplarzy, w roku 2008 tylko 26, w 2009 aż 41, a w roku 2010 jedynie 14. Pojedyncze osobniki tego gatunku występują także na innych wilgotnych łąkach położonych na terenie gminy Święta Katarzyna. Ponadto potwierdziłam występowanie w rejonie Gajkowa (okolice Kamieńca Wrocławskiego) *Orchis mascula* (L.) L. subsp. *signifera* (Vest.) Soó. Populacja jest niewielka liczy 5 osobników i nie zmieniła swojej liczebności od momentu odnalezienia. Potwierdziłam również liczące

²⁴ Przemysław Bąbalewski, Adam Błochowiak, Włodzimierz Breś, Piotr Chohura, Dolores Ciepielewska, Zygmunt Dajdok, Marta Damszel, Mariola Hadryś, Anita Hryncewicz-Gwóźdź, Michał Hurej, **Anna Jakubska-Busse**, Edyta Jaźwińska, Agata Kaczmarek, Katarzyna Kalinowska, Justyna Kiersnowska, Włodzimierz Kita, Zdzisław Klukowski, Piotr Klukowski, Marek Kopacki, Agnieszka Kosewska, Tomasz P. Kurowski, Agnieszka Laszczak-Dawid, Maciej Łobczowski, Agnieszka Markowska, Krzysztof Matkowski, Janusz Mazurek, Ewa Moszczyńska, Mariusz Nietupski, Katarzyna Nowik, Rafał Ogórek, Leszek B. Orlikowski, Elżbieta Płaskowska, Magdalena Ptaszek, Wojciech Pusz, Mariusz Szmagara, Marzena Suchocka, Michał Śliwiński, Anna Tratwał, Tomasz Trelka, Jacek Twardowski, Felicyta Walczak. **2010**. Praca zbiorowa (red. E. Płaskowska). **Miejskie tereny zielone - zagrożenia**. Wyd. UP we Wrocławiu, Monografia CV, Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych. Seria wydawnicza – Problemy ochrony roślin na terenach zurbanizowanych, s. 1-164.

kilkadziesiąt osobników stanowisko *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó i *D. majalis*, znajdujące się w rejonie Łoziny. Przeprowadzone przeze mnie badania przyczyniają się do poszerzenia wiedzy nt. ekologii badanych gatunków storczykowatych w warunkach zwiększonej antropopresji, jaka ma miejsce na obszarach miejskich i podmiejskich.

Oprócz prowadzenia badań chorologicznych, równolegle prowadziłam badania taksonomiczne nad rodzajem *Epipactis* Zinn, 1757, m.in. nad strukturą pyłku, a konkretnie wykorzystaniem cech mikromorfologii egzyny w taksonomii rodzaju. Szczegółowo zbadałam 2 gatunki tj. *E. helleborine* oraz *E. albensis*, nie stwierdziłam jednak istotnych różnic w urzeźbieniu egzyny, które były by pomocne w procesie identyfikacji gatunków. U obu badanych taksonów stwierdziłam urzeźbienie siatkowate (*exinum reticulatum*). W przypadku pyłku *E. albensis* stwierdziłam w badanym materiale duży, tj. 18% udział ziaren niewykształconych, mniejszych bądź zdeformowanych, u *E. helleborine* pyłek wadliwy stanowił 4%, choć wartość ta może być różna w zależności od jakości badanego materiału. Zmierzona przeze mnie zewnętrzna średnica ziaren pyłku wynosi odpowiednio 20,26-26,00 μm u *E. helleborine* oraz 20,18-25,60 μm u *E. albensis*, aczkolwiek wartości średnie są zbliżone²⁵.

Prowadziłam również badania cech epidermy gatunków z rodzaju *Epipactis* pod kątem zastosowania ich w taksonomii. Wyniki moich badań potwierdziły, iż cechy, takie jak kształt komórek właściwych epidermy, czy kształt włosków epidermalnych nie są pomocne w identyfikacji gatunków²⁶. Ten problem badawczy podejmowałam jeszcze wielokrotnie, m.in. w pracach stanowiących osiągnięcie habilitacyjne.

Moje badania naukowe, co prawda skoncentrowane były głównie na storczykowatych, jednak udało mi się dokonać ważnych odkryć dotyczących także innych grup systematycznych. Przykładem takich projektów były badania prowadzone nad weryfikacją rozmieszczenia populacji gatunków zagrożonych wyginięciem lub figurujących w Polskiej Czerwonej Księdze Roślin i na czerwonych listach roślin.

W trakcie badań prowadzonych w roku 2005 potwierdziłam uznane od 1980 roku za nieistniejące stanowisko kotewki orzecha wodnego *Trapa natans* L. w rejonie Zakrzowa koło Jelcza-Laskowic.

²⁵ **Jakubska A. 2007.** Analysis of the exine micromorphology of *Epipactis helleborine* (L.) Crantz and *Epipactis albensis* Nováková et Rydlo (Orchidaceae, Neottieae) and its application to genus taxonomy. – International Journal of Invertebrate Taxonomy Genus Supplement **14**: 47–49.

²⁶ **Jakubska A. 2007.** The analysis of morphological differentiation of the epidermis of selected species of the *Epipactis* Zinn, 1757 (Orchidaceae, Neottieae). – International Journal of Invertebrate Taxonomy Genus Supplement **14**: 41-45.

Wraz ze współpracownikami odnalazłam i opisałam nowe, bogate stanowisko *Ophioglossum vulgatum*, które znajduje się w Górach Kaczawskich, na zachód od wsi Mysłów. Pomimo iż gatunek jest obecny w Górach Kaczawskich, do tej pory znany był jedynie z populacji tworzonych przez pojedyncze osobniki. Nowe stanowisko odkryłam w 2009 roku i potwierdziłam w czerwcu 2010²⁷.

Ponadto wraz z dr Michałem Śliwińskim prowadziłam badania i opublikowałam ich wyniki nad rozmieszczeniem (w tym rewizją stanowisk historycznych) i stanem zachowania populacji rzadkich i krytycznie zagrożonych wyginięciem (kategoria CR) chwastów: *Camelina sativa* (Brassicaceae)²⁸ oraz *Linaria arvensis* (Scrophulariaceae)²⁹ na terenie Dolnego Śląska.

Odnalazłam nowe stanowisko okratka australijskiego *Clathrus archeri* (Berk.) Dring, Clathraceae (Basidiomycetes, Phallales) na Przedgórzu Sudeckim w rejonie wsi Jasienica koło Ziębic.

Mam w swoim dorobku również osiągnięcia związane z badaniami taksonomicznymi owadów. Opisałam wspólnie z dr inż. Marcinem Kadejem nowy dla nauki gatunek mrzyka *Anthrenus (Nathrenus) havai* Kadej & Jakubska 2007 (Coleoptera, Dermestidae) z terenu Afryki Płd. (Namibia)³⁰.

Ponadto wraz ze współpracownikami opisałam pierwsze stwierdzenie pasożytowania pluskwiaka *Livia junci* (Schränk, 1789) (Hemiptera: Psyllidae) na okazach *Juncus fontanesii* J. Gay ex Laharpe (Juncaceae) pochodzących z Portugalii³¹. Udało nam się także opisać stwierdzenie *L. junci* jako gatunku nowego dla entomofauny Iraku³².

Ważnym osiągnięciem w zakresie badań taksonomicznych było opublikowanie w prestiżowym czasopiśmie *Taxon* propozycji zmian w Międzynarodowym Kodeksie Nomenklatury Botanicznej (Vienna Code) dotyczących sytuacji, jak uniknąć braku możliwości odrzucenia typów

²⁷ **Jakubska-Busse A., Śliwiński M. 2010.** Nowe stanowisko nasięźrzała pospolitego *Ophioglossum vulgatum* L. (Ophioglossaceae) na Dolnym Śląsku. – *Acta Bot. Siles.* **5**: 107-110.

²⁸ **Jakubska-Busse A., Śliwiński M. 2011.** *Camelina sativa* (Brassicaceae) na Dolnym Śląsku - rzadki chwast jako pozostałość dawnych upraw. *Acta Botanica Silesiaca*, Suppl. **1**: 78-80.

²⁹ **Jakubska-Busse A., Śliwiński M. 2011.** *Linaria arvensis* (Scrophulariaceae) na Dolnym Śląsku - bardzo rzadka czy już wymarła? *Acta Botanica Silesiaca*, Suppl. **1**: 156-158.

³⁰ Kadej M., **Jakubska A. 2007.** A new species of *Anthrenus* Geoffroy, 1762 (Coleoptera, Dermestidae) from southern Africa. *Studies and reports of District Museum Prague-East, Praga, Taxonomical Series* **3**(1-2): 109-114.

³¹ Jarzembowski P., Faltyn A., **Jakubska-Busse A., Proćków J. 2013.** First report of occurrence of *Livia junci* (Schränk, 1789) (Hemiptera: Psyllidae) on *Juncus fontanesii* J. Gay ex Laharpe (Juncaceae) from Portugal – *Archives of Biological Sciences* **65**(4): 1521-1524.

³² Jarzembowski P., Faltyn A., **Jakubska-Busse A., Proćków J. 2014.** *Livia junci* (Schränk, 1789) (Hemiptera: Psyllidae) a new species of Iraqi entomofauna. – *Archives of Biological Sciences* **66**(3): 987-990.

opisowych w przypadku, gdy są w konflikcie z protologiem³³ oraz usunięcia zbędnej zasady, która dotychczas musiała być uwzględniana w trakcie typifikacji nazw rodzajowych³⁴.

Wspólnie ze współpracownikami opisałam nowe miejsce występowania inwazyjnego, pochodzącego z gór Kaukazu taksonu, jakim jest *Macroscadium alatum* (Apiaceae)³⁵. Stanowisko znajduje się w Bieszczadach Zachodnich (Duszatyn, gmina Komańcza) i obecnie jest najbardziej wysuniętym na zachód w całym zasięgu gatunku. W tej samej pracy opisaliśmy również nowo odkrytą cechę diagnostyczną, dotychczas nie podawaną w opisach rośliny, jaką jest występowanie brodawek (*papillae*) na wewnętrznej powierzchni płatków korony. Badania wykonano m.in. przy użyciu technik mikroskopii skaningowej (SEM). Zaproponowaliśmy wykorzystanie tej cechy w kluczu do oznaczania przedstawicieli rodziny Apiaceae.

Brałam również udział w badaniach składu chemicznego olejków eterycznych dwóch inwazyjnych gatunków, tj. *Heracleum sosnovskyi* oraz *Heracleum mantegazzianum* (Apiaceae). W olejkach eterycznych wydzielanych przez te dwa gatunki barszczu zidentyfikowałam wraz ze współpracownikami szereg związków mogących mieć bezpośredni, negatywny wpływ na stan zdrowia ludzi i zwierząt przebywających w ich pobliżu. Stwierdziliśmy m.in., że olejki eteryczne, z wyjątkiem pochodnych kumaryny, zawierają wiele toksycznych związków (w tym kancerogennych), m.in. 2-metylopropanian 2-metylopropylu, butanian 2-metylobutyłu, heksanian heksylu, czy heksadekan-1-ol i inne. Przeprowadzona przez nas analiza jakościowa i ilościowa składu chemicznego olejków eterycznych wykonana techniką GC-MS wykazała, iż badane taksony są bardzo blisko spokrewnione, a rozróżnienie obu gatunków jedynie na podstawie widm chromatograficznych składu chemicznego olejków eterycznych nie jest możliwe.

Ostatnim problemem badawczym, dotyczącym bezpośrednio storczykowatych, w rozwiązaniu którego brałam czynny udział, były pionierskie badania nad powiązaniem emitowanego przez rośliny zapachu z obserwowaną entomofauną odwiedzającą i zapylającą kwiaty rzadkiego w skali Europy storczyka *Epipogium aphyllum*. Wraz ze współpracownikami wykazałam, iż do głównych zapylaczy badanego taksonu storczyka należą obserwowane trzmiele z rodzaju *Bombus* (Hymenoptera): *B. lucorum*, *B. hortorum*, *B. terrestris*, *B. pascuorum* i *B.*

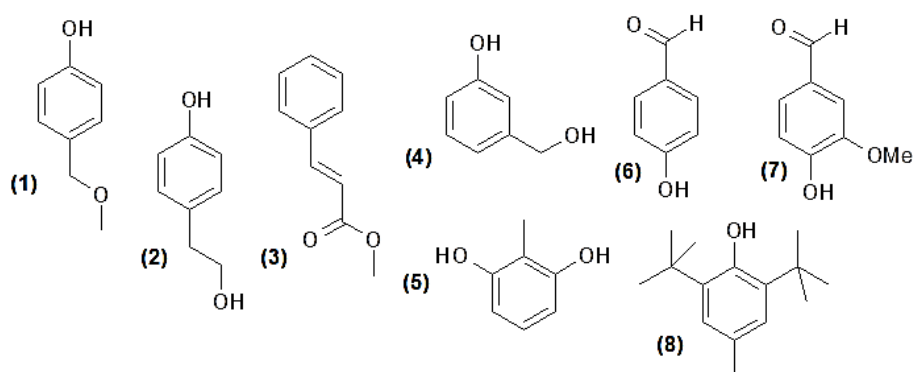
³³ Proćków J., Jakubská-Busse A. 2010. (139) Proposal on how to avoid the impossibility of rejection of types when in conflict with the protologue. *Taxon* 59(3): 983.

³⁴ Proćków J., Jakubská-Busse A. 2010. (238) Proposal to remove a superfluous rule that is followed when generic names are typified. *Taxon* 59(6): 1914.

³⁵ Proćków J., Jarzembowski P., Wilusz E., Faltyn A., Jakubská-Busse A. 2014. The westernmost locality of *Macroscadium alatum* (Apiaceae) in Europe and the new diagnostic feature of the species. *Archives of Biological Sciences* 66(3): 1171-1176.

soroensis (= *B. proteus*), oraz pszczoła miodna *A. mellifera* (Hymenoptera). Za potencjalnego wektora uznaliśmy *Episyrphus balteatus* (Diptera, Syrphidae).

Badania składu chemicznego ekstraktów kwiatowych *E. aphyllum* dla roślin pochodzących z terenu Polski i Czech wykazały obecność licznych alkanów (m.in. cyklododekanu, cyklotertadekanu, pentadekanu, heksadekanu, tetrakozanu, nonankozanu i in., oraz alkenów (m.in. heptadekenu, oktadekenu, nonandekenu, trikozenu, pentatriakontenu oraz heksatriakontenu) (ryc. 4).



Ryc. 4. Wzory strukturalne interesujących związków chemicznych (pochodnych benzenu) stwierdzonych w ekstrakcie *Epipogium aphyllum*: (1) 4-metoksymetolfenol, (2) 2-(4-hydroksyfenyl)etanol, (3) cynamonian metylu, (4) alkohol 3-hydroksybenzylowy, (5) 2-metylorezorcynol, (6) 4-hydroksybenzaldehyd, (7) 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehyd, (8) 2,6-di-tert-butyl-4-metylofenol (= 2,6-di-tert-butyl-p-krezol).

Na podstawie: Jakubská-Busse A., Jasicka-Misiak I., Poliwoła A, Święczkowska E., Kafarski P. 2014. Why are the ghost orchids rarely visited by insects? The chemical composition of floral extract of *Epipogium aphyllum* Sw. (Orchidaceae) clue on their pollination biology. – Archives of Biological Sciences 66(3): 977-986.

Na podstawie analiz GC-MS oraz LC-ESI-MS potwierdziłam obecność związków smakowo-zapachowych, takich jak cynamonian metylu, czy wanilina (4-hydroksy-3-metoksybenzaldehyd) oraz jej pochodnych. Dodatkowo wykryłam obecność związków potencjalnie odurzających owady, tj. indolo i morfino pochodnych, tj. 7,8-didehydro-4,5-epoksy-3,6-D-morfinianu oraz 3-{2-[3-{3-(benzyl)propyl}-3-indolu]. W ekstraktach stwierdziłam również liczne ketony, aldehydy, kwasy karboksylowe oraz estry mogące mieć synergiczne działanie w formowaniu zapachu *Epipogium aphyllum*.

Innym, bardzo ciekawym problemem badawczym, w rozwiązaniu którego brałam czynny udział, było zidentyfikowanie przyczyny pojawiania się deformacji kwiatostanów zwanych

„czarcimi miotłami” u *Juncus articulatus* L. (Juncaceae) ³⁶. Do tej pory uważano, iż są one rezultatem jedynie pasożytowania larw owadów *Livia junci* na pędach rośliny żywicielskiej. Modyfikacje morfologiczne rośliny gospodarza były tak poważne, że w przeszłości zdeformowane okazy były opisywane nawet jako gatunki nowe dla nauki. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdziliśmy występowanie fitoplazmy ‘*Candidatus Phytoplasma asteris*’ w próbkach roślin z objawami proliferacji pędów oraz żerujących na nich owadów. Obecność fitoplazmy w tkankach potwierdzono za pomocą łańcuchowej reakcji polimerazy (nested PCR) ze starterami uniwersalnymi dla fitoplazm. Produkty reakcji dla zainfekowanych roślin oraz owada pasożytującego zsekwencjonowano i umieszczono w GenBank (GenBank Acc. Nos. KF774297, KF774298, KF774299, KJ394481, KJ394482, KJ394483, KJ394484, KJ394485, KJ394486). Na podstawie analizy BLAST wykazaliśmy, że uzyskane sekwencje są w ponad 99% podobne do sekwencji szczepów ‘*Candidatus Phytoplasma asteris*’, zdeponowanych wcześniej w GenBank (Acc. Nos. KC623537, KC924727, AB738740). Według naszej wiedzy, jest to pierwsze stwierdzenie fitoplazmy ‘*Candidatus Phytoplasma asteris*’ w tkankach *J. articulatus* oraz *Livia junci*.

Podsumowując, za najważniejsze osiągnięcia w pozostałych badaniach nie objętych osiągnięciem habilitacyjnym uważam:

1. Identyfikację związków narkotycznych w nektarze *Epipactis helleborine* oraz ustalenie mechanizmu „uwodzenia” owadów zapylających, a także zidentyfikowanie w nektarze związków o działaniu bakterio i grzybobójczych, m.in. furfuralu, syringolu (2,6-dimetoksfenol), pochodnych indolowych, oraz eugenolu i pochodnych. Etanol, będący jedną z przyczyn efektu tzw. „pijanych owadów” powstaje nie tylko w wyniku metabolizmu drożdży, ale także jako produkt syntezy i rozpadu związków w skomplikowanych reakcjach zachodzących w nektarze.
2. Wyniki długoterminowych badań nad rozmieszczeniem i stanem zachowania populacji storczykowatych na terenie Dolnego Śląska, które mają znaczenie aplikacyjne w działaniach na rzecz ochrony głównie storczykowatych w skali regionu, a także mogą być wykorzystane w zestawach porównujących stan populacji poszczególnych gatunków w szerszej skali.

³⁶ Jarzembowski P., Berniak H., Faltyn A., **Jakubska-Busse A.**, Proćków J. **2014**. First Report of ‘*Candidatus Phytoplasma asteris*’ Causing “Witches’-Brooms” on Jointleaf Rush (*Juncus articulatus* L.) by its Parasite *Livia junci*. – Plant Disease: zaakceptowane do druku.

3. Przedstawienie na łamach prestiżowego czasopisma *Taxon*, propozycji zmian w Międzynarodowym Kodeksie Nomenklatury Botanicznej (Vienna Code).
4. Pierwsze stwierdzenie pasożytowania pluskwiaka *Livia junci* (Schrank, 1789) (Hemiptera: Psyllidae) na *Juncus fontanesii* J. Gay ex Laharpe, na roślinach pochodzących z terenu Portugalii, a także pierwsze stwierdzenie *Livia junci* jako gatunku nowego dla entomofauny Iraku .
5. Opisanie wspólnie z dr inż. Marcinem Kadejem nowego dla nauki gatunku mrzyka *Anthrenus* (*Nathrenus*) *havai* Kadej & Jakubska 2007 (Coleoptera, Dermestidae) z terenu Afryki Płd. (Namibia).
6. Zbadanie składu olejków eterycznych dwóch gatunków barszczu: *Heracleum sosnovskyi* oraz *Heracleum mantegazzianum* (Apiaceae), pod kątem obecności związków trujących oraz kancerogennych.
7. Zbadanie biologii zapylania *Epipogium aphyllum* z uwzględnieniem składu entomofauny odwiedzającej i zapylającej kwiaty oraz identyfikacją potencjalnych atraktantów chemicznych wydzielanych przez kwiaty.
8. Pierwsze stwierdzenie obecności fitoplazmy '*Candidatus Phytoplasma asteris*' w próbkach roślin *J. articulatus* z objawami proliferacji pędów oraz w próbkach żerujących na nich owadów *Livia junci*. Nasze odkrycie uwiarygodnia hipotezę, iż to obecność fitoplazmy jest prawdopodobną przyczyną pojawiania się deformacji pędów *Juncus* sp. zwanych „czarcimi miotłami”, a nie – jak dotychczas sądzono – zjawisko to wywołuje jedynie żerowanie na pędach owadów.

Łącznie w swoim dorobku mam 64 publikacje, w tym 16 prac w czasopismach z tzw. „Listy Filadelfijskiej”, których sumaryczna punktacja według wytycznych MNiSW wynosi **432 pkt.**

Anna Jakubska-Busse