

**Dr inż. Agnieszka Synowiec**  
**Katedra Agrotechniki i Ekologii Rolniczej**  
**Wydział Rolniczo-Ekonomiczny**  
**Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kollątaja w Krakowie**

Załącznik 2  
**Autoreferat**  
**przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych,**  
**w szczególności określonych w art. 16 ust. 2 ustawy**  
**w języku polskim**

**Autoreferat przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych,  
w szczególności określonych w art. 16 ust. 2 ustawy  
w języku polskim**

**1. Imię i nazwisko** Agnieszka Synowiec (d. Stokłosa)

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania**

**magister inżynier rolnictwa**, specjalizacja: fizjologia roślin, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Rolniczy, 2000

Tytuł pracy: **Reakcja na suszę dwóch odmian soczewicy jadalnej (*Lens culinaris Medic.*)**

Opiekun naukowy: prof. dr hab. Władysław Filek

Recenzent: prof. dr hab. Henryk Piróg

**doktor nauk rolniczych z zakresu agronomia**, specjalność naukowa: ogólna uprawa roli i roślin, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, 2004

Tytuł rozprawy: **Studia nad odpornością odmian botanicznych owsa głuchego (*Avena fatua L.*) na wybrane herbicydy**

Promotor: dr hab. Jacek Kieć

Recenzenci: prof. dr hab. Ewa Stupnicka-Rodzinkiewicz  
prof. dr hab. Maria Jędruszczak

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

**2005 – 2006** Asystent naukowo-dydaktyczny, Katedra Ogólnej Uprawy Roli i Roślin, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

**od 2006** Adiunkt naukowo-dydaktyczny, Katedra Ogólnej Uprawy Roli i Roślin, (obecnie Katedra Agrotechniki i Ekologii Rolniczej), Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

**01.10.2009 – 26.09.2010** Visiting Lecturer, University of British Columbia, Faculty of Land and Food Systems

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

**a) tytuł osiągnięcia naukowego:**

jednotematyczny cykl publikacji pt.:

**„Analiza potencjału fitotoksycznego wybranych olejków eterycznych  
względem chwastów i roślin uprawnych”**

**b) publikacje wchodzące w zakres osiągnięcia naukowego:**

Autor/autorzy, data wydania, tytuł, wydawca lub czasopismo, tom, strony

Praca	Cytowanie	Impact Factor <sup>1</sup>	punkty MNiSW <sup>2</sup>
b.1	<b>Stokłosa A.</b> , Matraszek R., Isman M., Upadhyaya M.K. 2012. Phytotoxic activity of clove oil, its constituents, and its modification by light intensity in broccoli and common lambsquarters ( <i>Chenopodium album</i> ). <i>Weed Science</i> , 60(4), 607-611.	1,759	30
b.2	<b>Synowiec A.</b> , Możdżeń K., Skoczowski A. 2015. Early physiological response of broccoli leaf to foliar application of clove oil and its main constituents. <i>Industrial Crops and Products</i> , 74, 523-529.	3,449	40
b.3	<b>Synowiec A.</b> , Kalemba D. 2015. Composition and herbicidal effect of <i>Heracleum sosnowskyi</i> essential oil. <i>Open Life Sciences</i> , 10(1), 425-432.	brak	14
b.4	<b>Synowiec A.</b> , Rys M., Bocianowski J., Wielgusz K., Byczyńska M., Heller K., Kalemba D. 2016. Phytotoxic effect of fiber hemp essential oil on germination of some weeds and crops. <i>Journal of Essential Oil Bearing Plants</i> , 19(2), 252-276.	0,313	15
b.5	<b>Synowiec A.</b> , Drozdek E. 2016. Physicochemical and herbicidal properties of emulsions of essential oils against <i>Avena fatua</i> L. and <i>Chenopodium album</i> L. <i>Journal of Plant Diseases and Protection</i> , 123(2), 65-74.	0,477	20
b.6	<b>Synowiec A.</b> , Smęda A., Adamiec J., Kalemba D. 2016. The effect of microencapsulated essential oils on the initial growth of maize ( <i>Zea mays</i> ) and common weeds ( <i>Echinochloa crus-galli</i> and <i>Chenopodium album</i> ). <i>Progress in Plant Protection</i> , 56(3), 372-378.	brak	12
b.7	<b>Synowiec A.</b> , Kalemba D., Drozdek E., Bocianowski J. 2017. Phytotoxic potential of essential oils from temperate climate plants against the germination of selected weeds and crops. <i>Journal of Pest Science</i> , 90(1), 407-419.	3,103	40
b.8	<b>Synowiec A.</b> , Halecki W., Wielgusz K., Byczyńska M., Czaplicki S. 2017. Effect of FAME on the herbicidal effect of essential oils on maize and weeds. <i>Weed Technology</i> , DOI: 10.1017/wet.2016.17.	1,487	30

<sup>1</sup> - Impact Factor zgodnie z rokiem opublikowania; <sup>2</sup> - liczba punktów zgodnie z rokiem opublikowania

Sumaryczny IF prac zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **10,588**. Suma punktów według wykazu czasopism punktowanych MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **201**. We wszystkich wymienionych pracach jestem autorem pierwszym i korespondencyjnym. Prace i oświadczenia wszystkich współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie publikacji stanowią **załącznik 4** wniosku.

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

### Wprowadzenie i cel badań

Olejki eteryczne (OE) to wieloskładnikowe mieszaniny lotnych substancji pochodzenia roślinnego. Otrzymuje się je w procesie destylacji z parą wodną różnych części botanicznych roślin, z wyjątkiem otrzymywanych przez wyciskanie olejków z naowocni cytrusów (Baser i Buchbauer 2015). Za olejkowe gatunki roślin uważa się takie, które zawierają powyżej 0,01% olejku. Najcenniejsze olejki pozyskuje się z roślin z dziewięciu rodzin botanicznych, w tym *Lamiaceae*, *Pinaceae*, *Apiaceae*. Nazwy poszczególnych olejków są zwykle powiązane z gatunkami roślin, z jakich są destylowane (Pisulewska i Janeczko 2008).

OE są produktami końcowymi kilku różnych szlaków biochemicznych, należących do tzw. wtórnego szlaku metabolicznego (Maffei i in. 2011). Pełnią w roślinie olejkowej funkcje semiochemiczne – repelentne względem owadów roślinożernych i wabiące, m. in. owady zapylające (Usano-Alemany i Herraiz-Peñalver 2016) oraz allelopatyczne względem fitopatogenów, mikroorganizmów glebowych i roślin (Liu i in. 2008, Araniti i in. 2013).

Olejki eteryczne to mieszaniny heterogennych związków chemicznych, które ze względu na szkielet węglowy dzieli się głównie na związki alifatyczne, monoterpeny, seskwiterpeny i fenylopropany. W każdej z tych grup wyróżnia się klasy związków takie jak węglowodory, etery, estry, alkohole, aldehydy i ketony. W olejkach występują też związki siarki i azotu. W skład OE wchodzi zwykle kilkadziesiąt różnych składników, przy czym często dominujący udział ma jeden lub kilka z nich (Pisulewska i Janeczko 2008, Sell 2009). Jest to podstawą kolejnej klasyfikacji olejków, według dominującego składnika, np. eugenolu w olejku goździkowym czy mentolu w olejku miętowym (Sell 2009).

Zmienność genetyczna pomiędzy populacjami roślin olejkowych oraz klimatyczno-geograficzne warunki ich wzrostu rzutują na jakościowe i ilościowe zróżnicowanie zawartości składników OE w roślinach (Vieira 2001, Raal i in. 2005, Boz i in. 2014, Mancini i in. 2014, Martínez-Natarén i in. 2014), co określa się chemicznym polimorfizmem roślin olejkowych i jest podstawą wyróżniania tzw. chemotypów, jak np. u tymianku (*Thymus vulgaris* L.) (Thompson i in. 2003) czy krwawnika pospolitego (*Achillea millefolium* L.) (Orav i in. 2007). Ma to aplikacyjne konsekwencje i potwierdza celowość każdorazowego badania zawartości i składu chemicznego olejków pozyskanych w różnych sezonach wegetacyjnych, z różnych populacji i lokalizacji.

Od stuleci człowiek korzysta z dobroczynnych właściwości olejków eterycznych, wykorzystując je w przemyśle spożywczym, perfumeryjnym, kosmetycznym i w celach leczniczych (Edris 2007, Kalemba i Kunicka 2003, Lawless 2013, Raut i Karuppaiyil 2014, Calo i in. 2015). Zainteresowanie OE istotnie wzrosło w ciągu ostatnich dekad, gdy pojawiły się nowe możliwości ich wykorzystania, szczególnie w tych gałęziach gospodarki, które związane są ze zdrowiem i żywnością (np. do konserwacji produktów spożywczych lub w aromaterapii). Przyczynia się do tego rozwój technik wspomagających destylację z parą wodną i podnoszących wydajność izolowania OE (Périno-Issartier i in. 2013, Filly i in. 2014), a także

upowszechnienie chemicznej analizy ich składników metodami chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC/FID) lub sprzężonej ze spektrometrią mas (GC/MS). Wzrost zainteresowania wykorzystaniem OE w przemyśle i w medycynie wynika także z presji społecznej na stosowanie produktów naturalnych i przyjaznych dla środowiska (Vlaeminck i in. 2014, Andruszkiewicz 2016).

Rośliny olejkowe i ich produkty spełniają szereg istotnych funkcji także w zrównoważonym rolnictwie. Wykazano, że uprawa gatunków olejkowych w płodozmianie lub ich aplikacja w postaci mulczów sprzyja regeneracji stanowiska poprzez poprawę aktywności biologicznej gleby oraz plonowania roślin następczych (Dhima i in. 2009, Gougoulis i in. 2010, Kadoglidou i in. 2014). Zastosowanie mulczów lub wyciągów z roślin olejkowych może także istotnie ograniczyć wzrost chwastów (Dhima i in. 2009, Ravlić i in. 2016, Synowiec i Nowicka-Połeć 2016). Olejki eteryczne pełnią mogą w rolnictwie funkcję tzw. botanicznych pestycydów lub alleloherbicydów wykorzystywanych do regulacji liczebności agrofagów, stanowiąc alternatywę dla pestycydów syntetycznych (Stokłosa 2006, Isman 2015). Co więcej, biologicznie czynne składniki olejków, jak i innych substancji pochodzenia roślinnego, mogą być w przyszłości cennym źródłem nowych substancji o charakterze herbicydowym (Villaverde i in. 2016). Badania takie, w kontekście obowiązku stosowania zasad integrowanej ochrony roślin, wynikającego z art. 14 Dyrektywy 2009/128/WE oraz Rozporządzenia nr 1107/2009, a obowiązującego w krajach członkowskich Unii Europejskiej od 1 stycznia 2014 roku, nabierają istotnego utylitarnego aspektu.

Dotychczas najlepiej przebadano insektycydowe i fungicydowe właściwości OE jako botanicznych pestycydów (Abbad i in. 2014, Tak i Isman 2015). Jednakże w ostatnim czasie również badania nad herbicydowymi właściwościami olejków mają coraz istotniejsze znaczenie (Amri i in. 2013, Bali i in. 2016). W tym zakresie prowadzone są na świecie głównie eksperymenty laboratoryjne, obejmujące właściwości allelopatyczne OE destylowanych przeważnie z roślin olejkowych rosnących w klimacie śródziemnomorskim i w Azji (Araniti i in. 2012, De Martino i in. 2012, Bali i in. 2016). Badacze wykazują wieloraką odpowiedź testowanych gatunków chwastów na rosnące stężenia olejków eterycznych w badaniach szalkowych (od inhibicji po stymulację kiełkowania), co wynika ze sposobu ich aplikacji: kontaktowo w roztworze wodnym lub pośrednio przez kontakt z parami olejków, a także ze zróżnicowanego składu chemicznego poszczególnych olejków. Znacznie mniej badań z zakresu fitotoksyczności OE dotyczy ich aplikacji doglebowej (opryski roztworami olejków na powierzchnię gleby) lub nalistnej (Blázquez i Carbó 2015). Wynika to z problemów związanych z opanowaniem głównych cech olejków utrudniających ich skuteczne stosowanie, jakimi są lotność oraz nierozpuszczalność w wodzie. Te ograniczenia mogą być przezwyciężone przez mikrokapsułkowanie (lotność) lub stosowanie odpowiednich adjuwantów, poprawiających stabilność emulsji z olejkami (słaba rozpuszczalność).

Z wykorzystaniem olejków eterycznych jako botanicznych pestycydów zetknęłam się w czasie rocznego pobytu (w latach 2009-2010) na stażu naukowym w laboratorium ekofizjologicznym Prof. M.K. Upadhyaya i w laboratorium entomologicznym Prof. M.B. Ismana w University of British Columbia w Kanadzie. Ponieważ zainteresował mnie ten

kierunek aplikacji olejków, wykorzystując wcześniejsze doświadczenie w badaniu właściwości allelopatycznych substancji roślinnych, rozwinęłam cykl badań własnych nad fitotoksycznym potencjałem olejków eterycznych. Włączyłam do badań olejek goździkowy oraz olejki z roślin olejkowych uprawianych lub rosnących w stanie naturalnym w Polsce. Ze względu na interdyscyplinarny charakter planowanych przeze mnie badań, nawiązałam współpracę naukową ze specjalistami zajmującymi się chemicznymi i fungicydowymi właściwościami OE (prof. Danuta Kalemba z Instytutu Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej), mikrokapsułkowanymi preparatami aromatycznymi (dr hab. Janusz Adamiec z Wydziału Inżynierii Procesowej i Środowiskowej Politechniki Łódzkiej), fizjologicznymi aspektami oddziaływań allelopatycznych (prof. Andrzej Skoczowski z Instytutu Biologii Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie i dr Magdalena Ryś z Instytutu Fizjologii Roślin PAN w Krakowie). Wielowymiarowe analizy statystyczne wykonywałam we współpracy z dr hab. Janem Bocianowskim z Katedry Metod Matematycznych i Statystycznych Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Głównym celem badań, wchodzących w skład przedstawianego osiągnięcia naukowego, była analiza aktywności fitotoksycznej wybranych olejków eterycznych względem różnych gatunków roślin uprawnych i chwastów. Cele szczegółowe obejmowały weryfikację następujących hipotez badawczych:

- 1) Olejki eteryczne wydestylowane z gatunków roślin olejkowych uprawianych i rosnących w stanie naturalnym w klimacie umiarkowanym, wykazują zróżnicowany potencjał fitotoksyczny względem kiełkowania i wzrostu roślin uprawnych i chwastów. Możliwe jest zatem znalezienie OE hamującego rozwój chwastów przy równoczesnym słabym oddziaływaniu na roślinę uprawną.
- 2) Doglebowa aplikacja olejków eterycznych w postaci preparatów mikrokapsułkowanych w nośnikach poprawia ich skuteczność herbicydową.
- 3) Olejki eteryczne aplikowane nalistnie w postaci emulsji i roztworów zmieniają potencjał fitotoksyczny względem roślin w zależności od rodzaju użytego emulgatora i innych składników roztworu.
- 4) Główne składniki olejku goździkowego, aplikowane nalistnie, wykazują potencjał fitotoksyczny różny od potencjału fitotoksycznego olejku.

## **Wyniki badań i ich omówienie**

### **1. Analiza fitotoksyczności olejków eterycznych wydestylowanych z gatunków roślin olejkowych uprawianych i rosnących w stanie naturalnym w klimacie umiarkowanym Polski (Prace b.3, b.4 i b.7)**

Przeprowadziłam serie doświadczeń laboratoryjnych, w których analizowałam fitotoksyczny potencjał 14 olejków eterycznych (OE) względem kiełkowania nasion oraz wzrostu siewek różnych gatunków chwastów jedno- i dwuliściennych oraz roślin uprawnych. Rośliny olejkowe – donory OE, pochodziły z upraw lub ze stanowisk naturalnych zlokalizowanych w różnych częściach Polski. Rośliny były zbierane w fazach rozwojowych

optymalnych do pozyskiwania olejków. Gatunki i części botaniczne roślin, z których pozyskano olejki eteryczne zestawiam w Tabeli 1, natomiast testowane gatunki chwastów i roślin uprawnych w Tabeli 2.

Tabela 1. Gatunki i części botaniczne roślin, z których pozyskano olejki eteryczne

Część rośliny	Gatunek	Olejek eteryczny	Praca
Ziele	<i>Achillea millefolium</i> L.	krwawnikowy	<b>b.7</b>
	<i>Melissa officinalis</i> L. ssp. <i>officinalis</i>	melisowy	
	<i>Mentha</i> × <i>piperita</i> L. Huds.	z mięty pieprzowej	
	<i>Salvia officinalis</i> L.	szałwiowy	
	<i>Solidago canadensis</i> L.	z nawłoci kanadyjskiej	
	<i>Thymus vulgaris</i> L.	tymiankowy	
Kłącza	<i>Acorus calamus</i> L.	tatarakowy	<b>b.7</b>
Kwiatostany	<i>Cannabis sativa</i> L.	z konopi włóknistych	<b>b.4</b>
	<i>Chamomilla recutita</i> (L.) Rausch.	rumiankowy	<b>b.7</b>
	<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	lawendowy	
	<i>Tanacetum vulgare</i> L.	wrotyczowy	
Nasiona	<i>Carum carvi</i> L.	kminkowy	<b>b.7</b>
	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	fenkułowy	
Owocostany	<i>Heracleum Sosnowskyi</i> Manden.	z barszczu Sosnowskiego	<b>b.3</b>

Tabela 2. Wykaz testowanych gatunków chwastów i roślin uprawnych

Gatunki chwastów		Praca	
Jednoliścienne	Owies głuchy ( <i>Avena fatua</i> L.)	<b>b.2, 3, 7</b>	
	Stokłosa żytnia ( <i>Bromus secalinus</i> L.)	<b>b.2, 3, 7</b>	
	Chwastnica jednostronna ( <i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) Beauv.)	<b>b.2, 3</b>	
Dwuliścienne	Szarłat szorstki ( <i>Amaranthus retroflexus</i> L.)	<b>b.2, 3, 7</b>	
	Chaber bławat ( <i>Centaurea cyanus</i> L.)	<b>b.2, 3, 7</b>	
Gatunki roślin uprawnych			
Jednoliścienne	Kukurydza ( <i>Zea mays</i> L.)	odm. Wilga	<b>b.2, 3</b>
	Owies siewny ( <i>Avena sativa</i> L.)	odm. Lokata	
		odm. Borowiak	<b>b.2, 3</b>
Dwuliścienne	Rzepak ozimy ( <i>Brassica napus</i> L.)	odm. Baldur	<b>b.3</b>
		odm. Huzar	<b>b.7</b>

Destylacja z parą wodną surowców roślinnych prowadzona była w Zakładzie Chemii i Syntezy Organicznej UR Kraków, Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu, Instytucie Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej oraz na skalę przemysłową w firmie HerbaNordPol z siedzibą w Gdańsku. Skład chemiczny OE oznaczony był w Instytucie Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej.

Skład chemiczny OE w każdym eksperymencie (**b.3**, **b.4** i **b.7**) oznaczany był metodą chromatografii gazowej z detektorem FID oraz chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Poszczególne składniki olejków zidentyfikowano na podstawie indeksów retencji oraz widm masowych, zaś procentowy udział składników w olejku wyznaczono przy użyciu detektora płomieniowo-jonizacyjnego (FID). W tabeli 3 przedstawiłam główne składniki zidentyfikowane w badanych OE. Ich skład był zgodny z danymi literaturowymi.

Tabela 3. Główne składniki badanych olejków eterycznych.

Olejek z barszczu Sosnowskiego	octan oktylu (39,5%), 2-metylobutanian heksylu (14,4%), oktanol (8,6%)
Olejek z konopi włóknistych	mircen (34,0%), terpinolen (15,8%), $\beta$ -kariofilen (10,4%)
Olejek kminkowy	karwon (63,2%), limonen (34,8%)
Olejek lawendowy	linalol (36,8%), octan linalilu (36,0%)
Olejek melisowy	geranial (40,2%), neral (28,2%)
Olejek szałwiowy	$\alpha$ -tujon (27,6%), $\beta$ -tujon (12,8%), kamfora (24,0%), 1,8-cyneol (10,3%), borneol (7,2%)
Olejek z wrotyczu	$\beta$ -tujon (46,8%), $\alpha$ -tujon (11,2%), kamfora (12,6%)
Olejek tymiankowy	tymol (72,9%), p-cymen (7,2%), $\gamma$ -terpinen (4,5%), karwakrol (3,1%)
Olejek fenkułowy	fenchon (33,4%), trans-anetol (39,2%), aldehyd anyżowy (7,4%)
Olejek z mięty pieprzowej	menton (36,8%), mentol (24,0%), octan mentylu (7,7%), 1,8-cyneol (3,7%)
Olejek rumiankowy	(E)- $\beta$ -farnezen (32,9%), tlenek $\alpha$ -bisabololu B (15,5%), tlenek bisabololu A (11,1%), tlenek $\alpha$ -bisabololu A (7,3%), chamazulen (3,7%)
Olejek tatarakowy	kamfen (13,6%), kamfora (6,6%), izomery shyobunonu (5,7% i 4,4%), akorenon (5,5%)
Olejek z krwawnika	1,8-cyneol (13,3%), $\beta$ -pinen (11,2%), sabinen (7,6%), borneol (4,1%), $\alpha$ -terpineol (3,5%), terpinen-4-ol (3,0%)
Olejek z nawłoci kanadyjskiej	germakren D (27,5%), $\alpha$ -pinen (26,0%), limonen (11,5%)

Fitotoksyczność olejków oznaczałam we wszystkich pracach według tej samej metodyki laboratoryjnej, aplikując w szalkach Petriego po pięć stężeń każdego OE w postaci wodnych roztworów z dodatkiem acetonu, jako rozpuszczalnika i obserwując wpływ OE na kiełkowanie nasion oraz wzrost siewek. Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadziłam w oparciu o metodę „*dose-response*” (wyznaczając krzywe log-logistyczne) oraz wyznaczenie dawki ED50 w pakiecie statystycznym R, które to metody opanowałam na kursie pt. „*Use of linear and nonlinear regression in physical, chemical and biological weed control*”, prowadzonym przez Prof. Jensa C. Streibiga i Dr. Christiana Ritza z Uniwersytetu w Kopenhadze.

Wyznaczenie dawki ED50, czyli dawki powodującej pięćdziesięcioprocentowe zahamowanie kiełkowania testowanego gatunku chwastu w obecności OE, a następnie przeprowadzenie analizy wariancji, pozwoliło mi na obiektywne porównanie efektu fitotoksycznego zróżnicowanych chemicznie olejków eterycznych wobec różnych gatunków roślin traktowanych olejkami.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała znaczne zróżnicowanie wrażliwości nasion testowanych gatunków chwastów i roślin uprawnych na poszczególne OE. Olejek z owocostanu barszczu Sosnowskiego nie był wcześniej badany pod kątem fitotoksyczności względem kiełkowania nasion, zatem wyniki uzyskane przeze mnie w pracy **b.3** są pierwszym doniesieniem z tego zakresu. OE z barszczu Sosnowskiego charakteryzował



się dobrą skutecznością w hamowaniu kiełkowania nasion, a największą wrażliwością na kiełkowanie w obecności tego OE cechowały się nasiona *Amaranthus retroflexus* ( $ED_{50} = 0,67 \text{ g l}^{-1}$ ) oraz ziarniaki *Bromus secalinus* ( $ED_{50} = 0,63 \text{ g l}^{-1}$ ). Największą tolerancję na działanie fitotoksyczne olejku z barszczu Sosnowskiego wykazywały ziarniaki *Echinochloa crus-galli* ( $ED_{50} = 2,37 \text{ g l}^{-1}$ ) oraz kukurydzy pastewnej odm. Wilga ( $ED_{50} = 2,48 \text{ g l}^{-1}$ ) (**b.3**). Z kolei, olejek z kwiatostanów konopi włóknistych odm. Białobrzeskie charakteryzowała niska fitotoksyczność względem kiełkowania nasion ośmiu testowanych gatunków. Największą wrażliwość na kontaktowe działanie tego olejku stwierdzono u nasion *Centaurea cyanus* ( $ED_{50} = 0,46 \text{ g l}^{-1}$ ), podczas gdy nasiona pozostałych gatunków – roślin uprawnych (kukurydza, owies siewny) oraz chwastów (*Avena fatua*, *B. secalinus*, *E. crus-galli* i *A. retroflexus*), cechowała niska wrażliwość ( $ED_{50}$  w zakresie  $1,48\text{--}10,3 \text{ g l}^{-1}$ ), zaś nasiona rzepaku jarego były niewrażliwe na zastosowane stężenia olejku (nie można było wyznaczyć dawki  $ED_{50}$ ) (**b.4**).

W pracach **b.3** i **b.4** przedstawiłam wnikliwe analizy morfometryczne siewek (długość łodyżek i korzonków) traktowanych OE. Uzyskane wyniki odpowiadały wynikom dotyczącym analizy procentu kiełkowania nasion, a mianowicie silniejsze hamowanie wzrostu elongacyjnego siewek w obecności rosnących dawek olejków występowało u tych gatunków, u których stwierdzono równocześnie istotnie mniejszą liczbę kiełkujących nasion. Stwierdziłam również, że w kontakcie z olejkami znacznie silniej hamowany jest wzrost korzonków siewek niż wzrost łodyżki. Dodatkowa wieloczynnikowa analiza statystyczna, przeprowadzona w oparciu o wszystkie badane parametry siewek (procent kiełkowania, długość łodyżek i korzonków), umożliwiła mi pogrupowanie badanych gatunków roślin na mniej i bardziej wrażliwe na olejek z konopi (**b.4**). W wyniku analizy wyodrębniłam *A. retroflexus* oraz *B. secalinus*, jako gatunki o nasionach bardziej wrażliwych na kontaktowe działanie OE z konopi oraz owies siewny i owies głuchy (*A. fatua*), jako gatunki o ziarniakach najbardziej tolerancyjnych na działanie tego olejku. W pracy **b.4** przeprowadzona została, przy użyciu spektroskopu Ramana z transformacją Fouriera, analiza zmian w składzie chemicznym siewek *A. fatua* i *C. cyanus* pod wpływem działania olejku z konopi. Analiza wyników pozwoliła mi na stwierdzenie wpływu olejku z konopi na zaburzenia ilościowo-jakościowe w składzie kwasów tłuszczowych obecnych w siewkach *C. cyanus* i węglowodanów w siewkach *A. fatua*, przy czym intensywność tych zmian zwiększała się wraz ze wzrostem stężenia olejku w roztworze.

W eksperymencie opisanym w pracy **b.7** testowałam wpływ 12 OE na kiełkowanie nasion trzech gatunków roślin uprawnych, dwóch gatunków chwastów jednoliściennych i dwóch gatunków chwastów dwuliściennych. Analiza statystyczna dawki  $ED_{50}$  wykazała, że najbardziej wrażliwe na zastosowane OE były nasiona *B. secalinus*, *A. retroflexus* i *C. cyanus*. Wartości  $ED_{50}$  dla tych gatunków mieściły się w przedziale  $0,04\text{--}0,28 \text{ g l}^{-1}$ . Powyższe wyniki skłoniły mnie do stwierdzenia istnienia zróżnicowania w poziomie wrażliwości nasion na OE, przy czym wyższą wrażliwością, z reguły, cechują się te należące do gatunków o nasionach drobniejszych, jak np. *A. retroflexus*.

W pracy **b.7** mogłam przeprowadzić analizę porównawczą fitotoksyczności olejków według ich składu chemicznego. W oparciu o analizę kanoniczną, wspartą analizą odległości

Mahalanobisa, na podstawie procentu kiełkujących nasion i zmiennych morfometrycznych siewek, wyodrębniłam cztery grupy OE o zróżnicowanych właściwościach fitotoksycznych względem testowanych roślin. W dwóch pierwszych grupach, o wysokiej i średniej fitotoksyczności znalazły się wyłącznie uprawiane gatunki roślin olejkowych. I tak, w grupie olejków o najwyższej fitotoksyczności znalazły się olejki: kminkowy, miętowy, tymiankowy i szałwiowy. Do grupy o średniej fitotoksyczności zaliczone zostały olejki: melisowy i lawendowy oraz z kopru włoskiego. W grupie olejków o niskiej fitotoksyczności znalazły się olejki: wrotczywy, tatarakowy, krwawnikowy i rumiankowy, zaś najniższą fitotoksycznością charakteryzował się olejek z nawłoci kanadyjskiej. Poziom fitotoksyczności badanych olejków był dodatnio skorelowany z zawartością w nich związków z grupy tlenowych pochodnych monoterpenów, a szczególnie alkoholi monoterpenowych, estrów i ketonów. W olejkach o wysokiej fitotoksyczności udział tlenowych monoterpenów wynosił 64-95%, dla olejków o niższej fitotoksyczności udział związków z tych grup był coraz mniejszy, aż po olejek z nawłoci kanadyjskiej, który zawierał znikomą ich ilość (2,1%), przy dominującym udziale monoterpenowych i seskwiterpenowych węglowodorów. Obserwacje te potwierdziły się również w przypadku olejku z konopi włóknistych, który cechowała niska fitotoksyczność a w składzie którego też dominują węglowodory (b.4).

W pracy b.7 weryfikowałam również hipotezę o istnieniu korelacji pomiędzy fitotoksycznością OE a gatunkiem zwalczanego chwastu. Opierając się o analizę składowych głównych przeanalizowałam 66 kombinacji OE × gatunek rośliny, uzyskując w jej wyniku grupy o wyższej i niższej fitotoksyczności. Udowodniłam statystycznie, że fitotoksyczność olejku jest zależna nie tylko od składu i dawki olejku (ED50), ale zależy też od poziomu wrażliwości nasion danego gatunku. Każdorazowo olejek z grupy o niższej fitotoksyczności w kontakcie z nasionami chwastu o wyższej wrażliwości powodował zwiększone zahamowanie kiełkowania tych nasion, natomiast wynik przeciwny – zmniejszony potencjał fitotoksyczny OE, stwierdziłam testując efekt olejku o wyższej fitotoksyczności względem kiełkowania nasion gatunku chwastu o mniejszej wrażliwości na OE.

Wyniki eksperymentów laboratoryjnych weryfikowałam w doświadczeniach wazonowych, aplikując wybrane olejki eteryczne doglebowo lub nalistnie. Oceniałam wpływ olejków na uszkodzenia i wzrost gatunków chwastów: *Chenopodium album*, *Echinochloa crus-galli* lub *Avena fatua*, oraz dwóch modelowych roślin uprawnych – kukurydzy pastewnej lub brokołu. Wyniki tych badań zostały zaprezentowane poniżej.

## **2. Aktywność fitotoksyczna wybranych olejków eterycznych aplikowanych doglebowo w postaci mikrokapsulek (praca b.6)**

Wyniki eksperymentu laboratoryjnego opisanego w pracy b.7 zainspirowały mnie do podjęcia badań nad fitotoksycznością trzech olejków eterycznych: kminkowego, miętowego i tatarakowego, aplikowanych doglebowo w postaci mikrokapsulek, na kiełkowanie i początkowy wzrost kukurydzy odm. Wilga oraz dwóch gatunków chwastów: *Ch. album* i *E. crus-galli*. Doglebowe zastosowanie mikrokapsulowanych olejków eterycznych w celach regulacji zachwaszczenia, zaproponowane w powyższej pracy, jest pierwszym tego typu

doniesieniem w literaturze. Mikrokapsułkowane OE stosuje się powszechnie do konserwacji produktów żywnościowych i w biotechnologii, a celem procesu mikrokapsułkowania jest wydłużenie czasu biologicznych oddziaływań OE w produktach poprzez jego zabezpieczenie przed odparowaniem oraz niekorzystnym działaniem czynników zewnętrznych, takich jak światło, temperatura (Nazarro i in. 2012).

W moich badaniach doglebowa aplikacja mikrokapsułkowanych preparatów olejków miała przede wszystkim na celu ograniczenie strat olejku z gleby oraz ułatwienie jego aplikacji. Olejki kminkowy i miętowy zostały wybrane ze względu na wysoki poziom fitotoksyczności względem chwastów, z kolei olejek tatarakowy należał do grupy olejków o niskiej fitotoksyczności (b.7). Aplikowałam doglebowo (w wazonach) mikrokapsułki na nośniku z maltodekstryny z dodatkiem gumy arabskiej z olejkami w ilościach odpowiadających 50, 100 i 200 kg mikrokapsułek na hektar, które zawierały odpowiednio: 6, 12 i 24 kg ha<sup>-1</sup> poszczególnych OE. Stwierdziłam, że doglebowa aplikacja mikrokapsułkowanych OE istotnie ograniczyła wschody roślin i gromadzenie biomasy w częściach nadziemnych, a w przypadku kukurydzy również w korzeniach. Podobnie jak we wcześniejszych pracach, zauważyłam zróżnicowaną odpowiedź gatunków testowych na aplikację olejków – najwrażliwsze *Ch. album*, następnie *E. crus-galli*, a najmniej wrażliwa – kukurydza. Generalnie stopień wrażliwości roślin na olejki aplikowane w postaci mikrokapsułek wzrastał wraz z dawką preparatu, a co za tym idzie, dawką olejku w wazonie. Poszczególne gatunki wykazywały też zróżnicowaną wrażliwość na rodzaj olejku – kukurydza i *Ch. album* były najwrażliwsze na doglebową aplikację mikrokapsułek z olejkami kminkowym, natomiast *E. crus-galli* na aplikację mikrokapsułek z olejkami miętowym. Mikrokapsułkowany olejek tatarakowy wykazywał w badaniach najmniejszy potencjał fitotoksyczny, co pokrywa się z wynikami uzyskanymi w eksperymentach laboratoryjnych (b.7). Wykazałam ponadto, że doglebowa aplikacja mikrokapsułkowanych OE wpłynęła na istotne obniżenie względnej zawartości chlorofilu (mierzonego w jednostkach SPAD) w liściach kukurydzy, szczególnie w przypadku stosowania najwyższych dawek olejków. Ciekawą obserwacją z badań było stwierdzenie hamującego wpływu nośnika OE w mikrokapsułkach – maltodekstryny, szczególnie w wyższych dawkach, na liczbę i masę chwastów (b.6).

### **3. Aktywność fitotoksyczna wybranych olejków eterycznych aplikowanych nalistnie w postaci roztworów i emulsji (prace b.1, b.5 i b.8)**

Na rynku północnoamerykańskim olejki eteryczne są zarejestrowane jako preparaty handlowe, m. in. do regulacji zachwaszczenia w gospodarstwach ekologicznych, ogródkach przydomowych czy na zielonych terenach użyteczności publicznej. Lista preparatów naturalnych dopuszczonych w rolnictwie ekologicznym jest rokrocznie publikowana na stronie Organic Materials Review Institute ([www.omri.org](http://www.omri.org)). Jednym z takich preparatów jest Matratrac AG (Carr i in. 2009), zawierający w swoim składzie olejek goździkowy (łac. *Oleum Caryophyllorum*), o silnych właściwościach fitotoksycznych (Bainard i in. 2006). Olejek goździkowy złożony jest głównie z eugenolu i izoeugenolu, należących do fenylopropanów, oraz z węglowodorów seskwiterpenowych –  $\beta$ -kariofilenu i  $\alpha$ -humulenu (Chaieb i in. 2007).

W trakcie rocznego stażu w laboratorium ekofizjologii Prof. M.K. Upadhyaya (University of British Columbia, Kanada) podjęłam badania nad fitotoksycznością olejku goździkowego i jego głównego składnika – eugenolu, aplikowanych nalistnie w postaci emulsji wodnych (o/w) z dodatkiem niejonowego surfaktanta Tween 20 (**b.1**). Olejek goździkowy stosowany był w stężeniu 2,5%, zaś eugenol w stężeniu 1,6%, co odpowiadało procentowemu udziałowi tego składnika w olejku. Głównym celem badań było określenie wpływu świetlnych warunków wzrostu na wrażliwość roślin brokułu odm. Red Arrow i chwastu – *Chenopodium album* na oprysk emulsjami OE. Przeprowadziłam dwie serie doświadczeń wazonowych w warunkach polowych, w których rośliny rosły do fazy dwóch liści (brokuł) i sześciu liści (*Ch. album*) przy trzech poziomach intensywności światła słonecznego: 1 500, 800, 500 i 250  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , a następnie były opryskiwane odpowiednimi emulsjami wodnymi z olejkiem. Toksyczność OE i eugenolu mierzyłam na podstawie przepuszczalności błony komórkowej tkanek liści (tzw. wyciek elektrolitów) po dwóch godzinach od oprysku. Wykazałam istotny wpływ warunków świetlnych w czasie początkowego wzrostu obu gatunków roślin na powierzchnię liści i ich masę. Wzrost w warunkach najwyższego zacielenia spowodował zmniejszenie powierzchni liści brokułu o ok. 72%, zaś *Ch. album* o ok. 15%. Również masa liści była istotnie obniżona, odpowiednio: o 77% u brokułu i o 88% u *Ch. album*. Zmiany te istotnie wpłynęły na stopień uszkodzeń tkanek, mierzony wyciekiem elektrolitów, po oprysku emulsjami z olejkiem goździkowym i eugenolem, przy czym analiza wyników eksperymentu wykazała, że ekspresja potencjału fitotoksycznego olejku aplikowanego nalistnie zależy od gatunku rośliny. Liście brokułu rosnące przy mniejszym dostępie światła wykazywały mniejszą wrażliwość na OE w porównaniu do liści *Ch. album*, co stwierdziłam przy odniesieniu poziomu wycieku elektrolitów do jednostki masy liścia. Co więcej, olejek goździkowy wykazywał silniejsze właściwości fitotoksyczne niż główny jego składnik, każdorazowo oprysk emulsją z OE powodował wyższy (średnio o ok. 10%) stopień uszkodzeń liści, w porównaniu do oprysku emulsją z eugenolem.

Nalistna aplikacja olejków eterycznych, mimo potwierdzonych właściwości fitotoksycznych, może być utrudniona, ze względu na ich wysoce hydrofobowy charakter i bardzo słabą zdolność do emulgowania w wodzie (Ultee i in. 2002). W związku z tym, w pracy **b.5** podjęłam się analizy wybranych właściwości emulsji wodnych z olejkiem kminkowym lub z mięty pieprzowej, z dodatkiem zarejestrowanych na rynku wielofunkcyjnych adjuwantów: AS 500 SL (zaw. oksyetylowana dodecyloamina i trójetanoloamina), Atpolan Bio 80 EC (zaw. estry metylowe kwasów tłuszczowych oleju rzepakowego, surfaktanty, bufor pH), niejonowych surfaktantów: Silwet Gold (zaw. polialkilenotlenek heptametylotrisiloksanu), Trend 90 EC (zaw. etoksylowany alkohol izodecyloowy) oraz roztworów OE z dwiema substancjami naturalnymi – octem winnym i kwasem cytrynowym. Zastosowane OE były wcześniej testowane w teście szalkowym i zostały zaklasyfikowane do grupy olejków o wysokiej fitotoksyczności względem kiełkujących nasion chwastów (**b.7**), dlatego postanowiłam oznaczyć ich fitotoksyczność w formie oprysku nalistnego. Za wyborem tych OE przemawiała ponadto wysoka zawartość olejków w materiale roślinnym, skład chemiczny (karwon w olejku kminkowym i mentol w olejku z mięty pieprzowej) oraz dostępność. Przygotowałam emulsje

o/w zawierające 5% wag. OE w twardej wodzie. Dodatek adjuwantu lub surfaktantu był zgodny ze wskazaniami producenta (1,5 l ha<sup>-1</sup> dla AS 500 i Atpolan Bio oraz 0,1% dla Trendu i 0,015% dla Silwet Gold), a dodatek kwasu cytrynowego i octu winnego wynosił 1%. Jako kontroli użyłam roztwory OE z wodą. Oznaczałam odczyn emulsji i roztworów oraz ich stabilność, rozumianą jako brak rozwarstwienia po różnym czasie od wymieszania. W rezultacie badań stwierdziłam, że dodatek adjuwantów lub surfaktantów wpływa nieznacznie na odczyn powstałych emulsji, natomiast kwasek cytrynowy i ocet winny silnie zakwasiły roztwory olejków. Żadna z emulsji nie wykazywała zadawalającej stabilności. Dodatek preparatu Atpolan Bio spowodował formowanie się, do 24 godzin od wytrząsania, grubej warstwy „śmietanki” na powierzchni, w przypadku pozostałych emulsji formowała się na ich powierzchni również warstwa OE (**b.5**). W drugiej części eksperymentu, w doświadczeniu wazonowym, badałam stopień uszkodzeń części nadziemnych *Ch. album* i *A. fatua* oraz ich suchą masę po oprysku emulsjami i roztworami (**b.5**). Uszkodzenia, wyrażone procentem pokrycia tkanek liści nekrozami, oznaczałam w dwóch terminach, po 24 godzinach i 7 dniach od oprysku. Po raz kolejny stwierdziłam międzygatunkowe zróżnicowanie w stopniu wrażliwości na oprysk OE. Bardziej wrażliwe były rośliny *Ch. album*. Eksperyment przeprowadziłam w dwóch seriach w warunkach szklarniowych, z kontrolowanym oświetleniem. Zaobserwowałam, że temperatura panująca w szklarni w trakcie i po oprysku OE miała istotny wpływ na stopień uszkodzeń części nadziemnych *A. fatua*. Oprysk części nadziemnych olejkami w wyższej temperaturze otoczenia powodował wyższy procent uszkodzeń tego chwastu. Spośród dwóch testowanych OE istotnie większy stopień uszkodzeń obu gatunków chwastów powodował olejek miętowy, dodatek adjuwantów do tego olejku nie spowodował większych zmian w poziomie fitotoksyczności, szczególnie względem *Ch. album*. Z kolei dodatek adjuwantów: estrów metylowych kwasów tłuszczowych oleju rzepakowego (Atpolan Bio) oraz oksyetylowanej dodecyloaminy i trójetanoloaminy (AS 500) do olejku kminkowego istotnie poprawił jego fitotoksyczność względem *A. fatua*, w porównaniu do aplikacji roztworu wodnego z samym OE.

Wyniki uzyskane w trakcie eksperymentu (**b.5**) stanowiły przyczynek do kolejnych badań (**b.8**). Oceniałam w nich efekt fitotoksyczny OE z kwiatostanów konopi włóknistych i ziela mięty pieprzowej aplikowanych nalistnie w postaci roztworów wodnych z estrami metylowymi kwasów tłuszczowych (FAME), względem kukurydzy odm. Wilga i dwóch gatunków chwastów: *E. crus-galli* i *Ch. album*. W badaniach wykorzystałam FAME pochodzące z olejów: rzepakowego, sojowego i słonecznikowego. Rośliny testowe po osiągnięciu fazy rozwojowej 3-5 liści opryskałam roztworami wody z OE (2,5% wag.) i z odpowiednim FAME (w dawce 1,5 lub 2,0 l ha<sup>-1</sup>). Rośliny kontrolne opryskałam ponadto roztworami wody i OE, wody i FAME oraz wodą (kontrola bezwzględna). Po upływie 3 godzin od oprysku roztworami OE/FAME obserwowałam pierwsze zmiany na liściach, zaś nekrozy były wyraźne już po upływie 12 godz. od oprysku. Oprysk spowodował także zahamowanie wzrostu i redukcję suchej masy części nadziemnych u badanych gatunków roślin, mierzoną w trzy tygodnie od oprysku. Redukcja suchej masy części nadziemnych po oprysku OE/FAME mieściła się w zakresie 10-20% u kukurydzy, 30-50% u komosy i 50-60% u chwastnicy.

Podobnie jak w pracy **b.5**, olejek miętowy wykazywał się wysokim poziomem fitotoksyczności, zaś OE z konopi – niskim. Co ciekawe, pewną fitotoksycznością cechowały się same estry. I tak, kukurydza była wrażliwa na oprysk roztworem FAME z oleju rzepakowego i sojowego (ok. 15-25% redukcji suchej masy), zaś *Ch. album* – na FAME z oleju słonecznikowego. Analiza regresji wielorakiej, przeprowadzona z uwzględnieniem wszystkich badanych cech roślin (długość części nadziemnych, sucha masa części nadziemnych i korzeni), wyodrębniła *Ch. album* jako gatunek najbardziej wrażliwy na oprysk testowanymi roztworami OE/FAME. Zróżnicowany poziom wrażliwości badanych gatunków na zastosowane roztwory ma aplikacyjne znaczenie, ze względu na ich współwystępowanie w agrocenozie. W tym kontekście, mniejsza wrażliwość kukurydzy na oprysk roztworami OE/FAME może zwiększać jej konkurencyjność względem chwastów, bardziej na oprysk podatnych.

Graficzna analiza wszystkich badanych cech roślin łącznie metodą wykresów trójkątnych, umożliwiła mi wytypowanie kombinacji roztworów OE/FAME o najwyższej fitotoksyczności względem testowanych gatunków. Stwierdziłam, że kukurydza i *E. crus-galli* były najwrażliwsze na oprysk olejkiem miętowym bez dodatku FAME. Fitotoksyczność olejku miętowego ujawniła się szczególnie w odniesieniu do redukcji suchej masy części nadziemnych *E. crus-galli* i korzeni kukurydzy. W przypadku *E. crus-galli* efektywny okazał się również oprysk roztworem olejku miętowego i FAME oleju rzepakowego. *Chenopodium album* cechowała wysoka wrażliwość na oprysk wszystkimi roztworami olejku miętowego/FAME (**b.8**).

#### **4. Analiza fizjologicznych mechanizmów fitotoksyczności olejku goździkowego i jego głównych składników aplikowanych nalistnie (prace b.1 i b.2)**

W pracy **b.1** porównywałam fitotoksyczność olejku goździkowego i jego głównych składników – eugenolu,  $\beta$ -kariofilenu i  $\alpha$ -humulenu. Fizjologiczną miarą fitotoksyczności OE i jego składników był stopień uszkodzenia błon komórkowych liści brokułu odm. „Red Arrow” oraz *Ch. album*, mierzone jako wypływ elektrolitów po dwóch godzinach od oprysku wodnymi emulsjami badanych substancji, z dodatkiem Tween 20. Rozpoczęłam od przetestowania fitotoksyczności olejku goździkowego w stężeniu 2,5% (wag.) oraz głównych składników olejku w ilościach odpowiadających ich proporcjom w oleju (odpowiednio – 63,96%, 13,99% i 6,06%, dla eugenolu,  $\beta$ -kariofilenu i  $\alpha$ -humulenu). Stwierdziłam, że najwyższą fitotoksyczność zarówno względem brokułu jak i *Ch. album* wykazywał olejek goździkowy. Spośród głównych składników olejku, eugenol wykazywał najwyższy poziom fitotoksyczności, a pozostałe dwa składniki, tj.  $\beta$ -kariofilen i  $\alpha$ -humulen, nie wykazywały żadnych efektów toksycznych – poziom wycieku elektrolitów z tkanek traktowanych wodnymi emulsjami tych składników był taki sam, jak z tkanek opryskanych wodą (**b.1**). W kolejnym eksperymencie każdy składnik olejku goździkowego stosowany był w pięciu takich samych dawkach (10, 20, 40, 80 i 160 mM). Stwierdziłam istotny wzrost wycieku elektrolitów wraz ze wzrostem dawki składnika, przy czym zarówno u brokułu jak i *Ch. album* krzywa „dose-response” dla eugenolu miała przebieg logarytmiczny, zaś dla  $\beta$ -kariofilenu i  $\alpha$ -humulenu – wykładniczy. Oznacza to, że zwiększanie dawki zarówno  $\beta$ -kariofilenu jak i  $\alpha$ -humulenu w

roztworze wodnym skutkować może dalszym wzrostem ich fitotoksyczności, wyrażonym poziomem wycieku elektrolitów. Co więcej, w przypadku brokułu, wyciek elektrolitów z liści traktowanych  $\alpha$ -humulenem w najwyższym stężeniu 160 mM osiągnął taki sam poziom jak dla eugenolu w tej samej dawce. Przeciwnie, u *Ch. album* nawet najwyższe dawki  $\beta$ -kariofilenu i  $\alpha$ -humulenu powodowały istotnie niższy wyciek elektrolitów, niż oprysk eugenolem (**b.1**).

Wyniki uzyskane w pracy **b.1** zainspirowały mnie do kontynuacji badań nad fizjologicznym mechanizmem fitotoksyczności olejku goździkowego i jego składników. W pracy **b.2** postawiłam hipotezę o istnieniu synergizmu pomiędzy eugenolem a każdym z pozostałych głównych składników olejku goździkowego, co może się wyrażać zwiększonym potencjałem fitotoksycznym dwuskładnikowego roztworu, w stosunku do roztworu zawierającego wyłącznie eugenol. Na podstawie wyników uzyskanych w pracy **b.1** jako roślinę testową wybrałam brokuł. Przeprowadziłam dwa eksperymenty, w których oceniałam efekt fitotoksyczny wodnych roztworów zawierających 2,5% (wag.) olejku goździkowego, 1,95% eugenolu (E), a także takiego samego stężenia eugenolu z 0,3%  $\beta$ -kariofilenu (E+C) i 0,05%  $\alpha$ -humulenu (E+H).

W pierwszym eksperymencie oceniana była emisja ciepła, której ilość jest proporcjonalna do kondycji rośliny. Pomiaru stałego wypływu ciepła (w ciągu 60 minut) z liści brokułu potraktowanych poszczególnymi roztworami oraz całkowitej emisji ciepła (po 60 minutach) wykonano w kalorymetrze izotermicznym. Stwierdziłam, że całkowita emisja ciepła z liści brokułu traktowanych badanymi roztworami jest istotnie niższa od ciepła emitowanego przez obiekt kontrolny (opryskany wodą), przy czym w największym stopniu emisję ciepła ograniczył oprysk olejkami goździkowymi. Pomiedzy eugenolem a jego mieszaninami z pozostałymi dwoma składnikami (E+C i E+H) nie wystąpiły istotne różnice. Jednocześnie istotnie więcej ciepła, w porównaniu do obiektu z olejkami, wyemitowane było z liści brokułu po oprysku roztworem E+H. Analiza termogramu wykazała sukcesywny spadek emisji ciepła z liści brokułu opryskanych olejkami oraz niemal liniowy, ale słabszy spadek po oprysku roztworem E+H. W przypadku oprysku liści roztworami E i E+C wpływ ciepła utrzymywał się na poziomie podobnym do obserwowanego w pierwszych minutach od oprysku.

W drugim eksperymencie obserwowałam przebieg zmian w obrazowaniu fluorescencji chlorofilu *a*, z wykorzystaniem komory fluorescencyjnej, z liści brokułu opryskanych badanymi roztworami. Pomiar obrazowania były wykonywane w trzech terminach: po 20, 40 i 60 minutach od oprysku. Analizowano cztery parametry fluorescencji chlorofilu: QY<sub>max</sub> – maksymalna wydajność fotosystemu II (PSII), wskaźnik będący najczęściej mierzonym parametrem fluorescencji, spadek jego wartości oznacza wzrost stresu u roślin; Q<sub>p</sub> – fotochemiczne wygaszanie fluorescencji, wskaźnik informujący o udziale otwartych centrów reakcji PSII; NPQ – niefotochemiczne wygaszanie fluorescencji, który odpowiada za emisję nadmiaru energii w postaci ciepła i wzrasta w warunkach oddziaływania czynników stresowych; Rfd – wskaźnik witalności PSII, będący miernikiem potencjalnej aktywności fotosyntetycznej, wartość tego wskaźnika w warunkach stresu obniża się.

Obrazowanie badanych wskaźników wykazało istnienie silnych zaburzeń w przebiegu fotosyntezy w liściach traktowanych olejkami goździkowymi i jego składnikami, za każdym

jednak razem zmiany wywołane działaniem roztworu z olejkiem były najsilniejsze. Wyraźne zmiany były obserwowane już po 20 minutach od traktowania liści roztworami. Analiza obrazowania fluorescencji nie wykazała istnienia różnic pomiędzy obiektami E, E+C i E+H. Wyniki uzyskane w eksperymencie pierwszym i drugim nie wskazały na występowanie synergizmu pomiędzy eugenolem i pozostałymi głównymi składnikami olejku goździkowego.

W celu zbadania korelacji pomiędzy całkowitą emisją ciepła z tkanek liści brokułu opryskanych roztworami a pozostałymi badanymi parametrami, wykonałam analizę regresji wielorakiej. Jako punkt odniesienia w analizie regresji wybrałam całkowitą emisję ciepła z tkanek, ponieważ wyraża ona kompleksowo stan fizjologiczny rośliny. W wyniku analizy stwierdziłam, że dwa parametry fluorescencji, mianowicie QY<sub>max</sub> oraz R<sub>fd</sub> wpływają istotnie na emisję ciepła i mogą być wczesnym wskaźnikiem niekorzystnych zmian zachodzących w tkankach roślin opryskanych olejkiem goździkowym lub jego głównymi składnikami.

### **Wnioski z przeprowadzonych badań z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

Przeprowadzone przeze mnie badania mają charakter użyteczny i stanowią punkt wyjścia do kolejnych prac, których celem będzie uzyskanie i optymalizacja formułacji preparatów naturalnych zawierających jako substancje czynne olejki eteryczne, lub ich składniki, służących do ograniczenia zachwaszczenia, przy równoczesnej tolerancji na te preparaty roślin uprawnych.

W nawiązaniu do postawionych hipotez badawczych, najważniejsze rezultaty będące również przesłanką do powyższego stwierdzenia, przedstawiłam poniżej:

- 1) Poziom fitotoksyczności olejków eterycznych, wydestylowanych z roślin rosnących w klimacie umiarkowanym, względem kiełkujących nasion chwastów i roślin uprawnych, jest zróżnicowany i zależy zarówno od olejku eterycznego, jak i traktowanej rośliny.
- 2) Poziom fitotoksyczności olejków eterycznych jest dodatnio skorelowany z zawartością w nich związków z grupy tlenowych pochodnych monoterpenu, zwłaszcza alkoholi monoterpenu, estrów i ketonów. Olejki eteryczne z kminku, mięty pieprzowej, tymianku i szałwii wyróżniają się najwyższym poziomem fitotoksyczności.
- 3) Zwiększenie stężenia olejku lub jego składnika w roztworze powoduje zwiększenie jego fitotoksyczności, przy czym wielkość tego efektu zależna jest od gatunku zwalczanego chwastu.
- 4) Gatunki chwastów w fazie kiełkowania różnią się wrażliwością na fitotoksyczne działanie olejków eterycznych. Gatunki jedno- i dwuliścienne o drobnych nasionach są bardziej wrażliwe na kiełkowanie w obecności olejków. W przypadku nalistnej aplikacji olejku wrażliwsze są chwasty dwuliścienne niż jednoliścienne. Mniejszą wrażliwością na doglebową i nalistną aplikację olejków, w stosunku do chwastów, charakteryzuje się kukurydza pastewna.
- 5) Olejki eteryczne aplikowane doglebowo w postaci mikrokapsułek redukują liczbę wschodzących chwastów oraz zaburzają ich początkowy wzrost. Potencjał



fitotoksyczny mikrokapsułkowanych olejków eterycznych zależy jest od gatunku chwastu, rodzaju olejku eterycznego i jego dawki.

- 6) Poziom fitotoksyczności wybranych olejków eterycznych, aplikowanych nalistnie, można regulować stosując je w emulsjach z adjuwantami bądź z estrami metylowymi kwasów tłuszczowych olejów jadalnych.
- 7) Olejek goździkowy, aplikowany nalistnie, wykazuje wyższą fitotoksyczność niż jego główne składniki w stężeniach równoważnych tym występującym w olejku.
- 8) Natężenie światła w trakcie wzrostu roślin, poprzez wpływ na rozwój blaszki liściowej, modyfikuje wrażliwość roślin na fitotoksyczne działanie olejku goździkowego aplikowanego nalistnie, jednak efekt ten zależy jest od gatunku rośliny.
- 9) Olejek goździkowy aplikowany nalistnie wywołuje zaburzenia w metabolizmie rośliny już po 20 minutach od oprysku. Trzy parametry fizjologiczne mogą stanowić wczesny indikator zmian fizjologicznych zachodzących w liściu po oprysku olejkiem, są nimi: wpływ ciepła z tkanek, maksymalna wydajność fotosystemu II (QY<sub>max</sub>) i wskaźnik witalności fotosystemu II (Rfd).

## Literatura

- Abbad A., Kasrati A., Jamali C.A., Zeroual S., Ba M'hamed T., Spooner-Hart R., Leach D. 2014. Insecticidal properties and chemical composition of essential oils of some aromatic herbs from Morocco. *Nat. Prod. Res.*, 28, 2338-2341.
- Amri I., Hamrouni L., Hanana M., Jamoussi B. 2013. Reviews on phytotoxic effects of essential oils and their individual components: news approach for weeds management. *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.* 4, 96-114.
- Andruszkiewicz K. (2016). Zachowania konsumentów na rynku produktów prozdrowotnych w dobie digitalizacji rynku. *Nierówności Społeczne a Wzrost Gospodarczy*, 45, 113-121.
- Araniti F., Lupini A., Sorgonà A., Conforti F., Marrelli M., Statti G.A., i in. 2013. Allelopathic potential of *Artemisia arborescens*: isolation, identification and quantification of phytotoxic compounds through fractionation-guided bioassays. *Nat. Prod. Res.*, 27, 880-887.
- Araniti F., Sorgonà A., Lupini A., Abenavoli M.R. 2012. Screening of Mediterranean wild plant species for allelopathic activity and their use as bio-herbicides. *Allelop. J.*, 29, 107-124.
- Bainard L.D., Isman M.B., Upadhyaya M.K. 2006. Phytotoxicity of clove oil and its primary constituent eugenol and the role of leaf epicuticular wax in the susceptibility to these essential oils. *Weed Sci.*, 54, 833-837.
- Bali A.S., Batish D.R., Singh H.P. 2016. Allelopathic effect of aromatic plants: role of volatile essential oils. *J. Global Biosc.*, 5, 4386-4395.
- Baser K.H.C., Buchbauer G. (Eds.). 2015. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC Press.
- Blázquez M.A., Carbó E. 2015. Control of *Portulaca oleracea* by boldo and lemon essential oils in different soils. *Ind. Crops Prod.*, 76, 515-521.
- Boz I., Burzo I., Zamfirache M.M., Efröse R. 2014. Essential oils of *Thymus comosus* Heuff. ex Griseb. et Schenk (Lamiaceae) collected from different areas of Romania. *Analele Stiintifice ale Universitatii Alexandru Ioan Cuza din Iasi. Sectiunea II A, Biologie Vegetala*, 60, 40-45.
- Calo J.R., Crandall P.G., O'Bryan C.A., Ricke S.C. 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems—A review. *Food Control*, 54, 111-119.
- Carr P.M., Winch T.J., Martin G.B., Gunderson J.J. 2009. Dickinson Natural Products Weed Control Efficacy Study. [www.ag.ndsu.edu/archive/dickinso/research/2009/agron09h.pdf](http://www.ag.ndsu.edu/archive/dickinso/research/2009/agron09h.pdf) (wgląd: 23.01.2017)
- Chaieb K., Hajlaoui H., Zmantar T., Kahla-Nakbi A.B., Rouabhia M., Mahdouani K., Bakhrouf A. 2007. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytoth.* Res, 21, 501-506.
- De Martino L, Mancini E, Marandino A, de Almeida LFR, De Feo V. 2012. Chemistry and antigerminative activity of essential oils and monoterpenoids from Mediterranean plants. *Curr. Bioactive Comp.*, 8, 13-49.
- Dhima K.V., Vasilakoglou I.B., Gatsis T.D., Panou-Philotheou E., Eleftherohorinos I.G. 2009. Effects of aromatic plants incorporated as green manure on weed and maize development. *Field Crops Res.*, 110, 235-241

- Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/128/WE z dnia 21 października 2009 r. ustanawiająca ramy wspólnotowego działania na rzecz zrównoważonego stosowania pestycydów. Dz. Urzęd. Unii Europ., L 309/71, 24.11.2009.
- Edris A.E. 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytoth. Res.*, 21, 308-323.
- Filly A., Fernandez X., Minuti M., Visinoni F., Cravotto G., Chemat F. 2014. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: from laboratory to pilot and industrial scale. *Food Chem.*, 150, 193-198.
- Gougoulis N., Vagelas I., Vasilakoglou I., Gravanis F., Louka A., Wogiatzi E., Chouliaras N. 2010. Comparison of neem or oregano with thiram on organic matter decomposition of a sand loam soil amended with compost, and on soil biological activity. *J. the Sci. Food Agric.*, 90, 286-290.
- Isman M.B. 2015. A renaissance for botanical insecticides? *Pest Manag. Sci.*, 71, 1587-1590.
- Kadoglidou K., Chalkos D., Karamanoli K., Eleftherohorinos I.G., Constantinidou H.I.A., Vokou D. 2014. Aromatic plants as soil amendments: effects of spearmint and sage on soil properties, growth and physiology of tomato seedlings. *Scientia Hort.*, 179, 25-35.
- Kalemba D., Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Medic. Chem.*, 10, 813-829.
- Lawless J. 2013. *The Encyclopedia of essential oils: the complete guide to the use of aromatic oils in aromatherapy, herbalism, health, and well-being.* Conari Press, China.
- Liu X., Chen Q., Wang Z., Xie L., Xu Z. 2008. Allelopathic effects of essential oil from *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* on pathogenic fungi and pest insects. *Front. Forestry China*, 3, 232-236.
- Maffei M.E., Gertsch J., Appendino G. 2011. Plant volatiles: production, function and pharmacology. *Nat. Prod. Rep.*, 28, 1359-1380.
- Mancini E., Camele I., Elshafie H.S., De Martino L., Pellegrino C., Grulova D., De Feo, V. 2014. Chemical composition and biological activity of the essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* from different areas in the Southern Apennines (Italy). *Chem. Biodiv.*, 11, 639-651.
- Martínez-Natarén D.A., Parra-Tabla V., Ferrer-Ortega, M.M., Calvo-Irabién L.M. 2014. Genetic diversity and genetic structure in wild populations of Mexican oregano (*Lippia graveolens* HBK) and its relationship with the chemical composition of the essential oil. *Plant System. Evol.*, 300, 535-547.
- Nazarro F., Orlando P., Fratianni F., Coppola R. 2012. Microencapsulation in food science and biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 23, 182-186.
- Orav A., Arak E., Raal A. 2006. Phytochemical analysis of the essential oil of *Achillea millefolium* L. from various European Countries. *Nat. Prod. Res.*, 20, 1082-1088.
- Périno-Issartier S., Ginies C., Cravotto G., Chemat F. 2013. A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation. *J. Chromatogr A*, 1305, 41-47.
- Pisulewska E., Janeczko Z. 2008. *Krajowe rośliny olejkowe – występowanie, uprawa, skład chemiczny, zastosowanie.* Wyd. Know-How. Kraków.
- Raal A., Arak E., Orav A. 2005. Comparative chemical composition of essential oil of *Thymus vulgaris* L. from different geographical sources. *Herba Polonica*, 1/2, 10-17.
- Raut J.S., Karuppayil S.M. 2014. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind. Crops Prod.*, 62, 250-264.
- Ravlić M., Baličević R., Nikolić M., Sarajlić A. 2016. Assessment of allelopathic potential of fennel, rue and sage on weed species hoary cress. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca*, 44, 48.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) NR 1107/2009 z dnia 21 października 2009 r. dotyczące wprowadzania do obrotu środków ochrony roślin. Dz. Urz. Unii Europ., L 309/1, 24.11.2009.
- Sell Ch. 2009. *Chemistry of Essential Oils In: Handbook of Essential Oils. Science, Technology and Application.* [ed:] K.H. Çan Baser, G. Buchbauer, CRC Press, London.
- Stokłosa A. 2006. Bioherbicydy i alleloherbicydy w walce z chwastami. *Postępy Nauk Rolniczych*, 6, 41-52.
- Synowiec A., Nowicka-Połeć A 2016. Effect of aqueous extracts of selected medicinal plants on germination of windgrass [*Apera spica-venti* (L.) P. Beauv.] and lambsquarters (*Chenopodium album* L.) seeds. *Acta Agrobotanica*, 69, 1668. DOI:10.5586/aa.1668
- Tak J.H., Isman M.B. 2015. Enhanced cuticular penetration as the mechanism for synergy of insecticidal constituents of rosemary essential oil in *Trichoplusia ni*. *Scient. Reports*, 5, 12690. DOI: 10.1038/srep12690.
- Thompson J.D., Chalchat J.C., Michet A., Linhart Y.B., Ehlers B. 2003. Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *J. Chem. Ecol.*, 29, 859-880.
- Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 1561-1568.

- Usano-Aleman J., Herraiz-Peñalver D. 2016. Ecological aspects of the essential oils from different *Salvia lavandulifolia* Vahl aerial parts. J. Essent. Oil Bear. Plants, 19, 1000-1005.
- Vieira R.F., Grayer R.J., Paton A., Simon J.E. 2001. Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. Biochem. System. Ecol., 29, 287-304.
- Villaverde J.J., Sandín-España P., Sevilla-Morán, B., López-Goti, C., Alonso-Prados, J.L. 2016. Biopesticides from natural products: Current development, legislative framework, and future trends. BioResources, 11, 5618-5640.
- Vlaeminck P., Jiang T., Vranken L. 2014. Food labeling and eco-friendly consumption: Experimental evidence from a Belgian supermarket. Ecol. Econ., 108, 180-190.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

Realizowana przeze mnie tematyka badawcza od początku pracy w Katedrze skupia się głównie wokół dwóch zagadnień – odporności chwastów, szczególnie gatunków jednoliściennych, na herbicydy oraz regulacji zachwaszczenia metodami biologicznymi, ze szczególnym uwzględnieniem zjawiska allelopatii. Oba problemy badawcze są ze sobą powiązane ze względu na silną, konkurencyjną presję na środowisko rolnicze i roślinę uprawną ze strony coraz liczniejszych biotypów chwastów odpornych, co stwarza istotne problemy w regulacji ich liczebności powszechnie stosowanymi metodami chemicznymi. Z tego powodu biologiczne metody ograniczania zachwaszczenia, w tym zjawisko allelopatii, stanowią mogą perspektywiczną alternatywę dla metod chemicznych.

Zjawiskiem odporności chwastów na herbicydy zajmowałam się w trakcie realizacji badań do pracy doktorskiej (w latach 2000-2004), dotyczącej odporności odmian botanicznych owsa głuchego (*Avena fatua*) na herbicydy z grupy inhibitorów ACC-azy, realizowanej pod opieką dr hab. Jacka Kiecia. Rezultatem były doniesienia konferencyjne (**III.B.4, III.B.23**) oraz pierwsze prace (**II.A.1, II.D.6-8**), opublikowane po otrzymaniu stopnia naukowego doktora, a dotyczące charakterystyki skali zjawiska odporności owsa głuchego na herbicydy w Polsce południowo-wschodniej. W kolejnych latach prowadziłam badania, finansowane m. in. z przyznanego mi stypendium ufundowanego przez pp. Alinę i Jana Wagów, w ramach Rektorskiego Funduszu Stypendialnego UR w Krakowie (rok 2008), będące rozwinięciem problematyki odporności chwastów na herbicydy. Ponadto, wiedzę z zakresu odporności poszerzałam uczestnicząc w roku 2013 w minisympozjum pt. „*Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides: mechanisms, epidemiology and prevention*” prowadzonym przez zespół prof. Stanisława Gawrońskiego w ramach Warsaw Plant Health Initiative na SGGW w Warszawie.

W pracy **II.A.3** dla stwierdzonych w Polsce południowej odpornych biotypów *A. fatua* wyznaczyłam indeks odporności (RI) na herbicyd fenoxaprop-P. Za ciekawe wnioski z powyższych i kolejnych badań (**II.A.3, II.D.13**) uważam stwierdzenie, powodowanych przez herbicydy, różnic pomiędzy biotypami odpornymi i wrażliwymi nie tylko w gromadzeniu biomasy nadziemnej, ale też biomasy korzeni. Odnotowałam mianowicie istotny przyrost biomasy korzeni u biotypu owsa głuchego odpornego na flauazyfop-P, co może rzutować na dalszy wzrost chwastu i jego konkurencyjność względem rośliny uprawnej. Ponadto u biotypów odpornych obserwowałam zjawisko tzw. „efektu Feniksa”, czyli u roślin z silnymi uszkodzeniami wywołanymi herbicydem wystąpiło odbijanie nowych pędów po upływie ok. 2

tygodni od oprysku. Wyniki te prezentowałam w formie referatu w czasie seminarium Sekcji Herbologicznej Komitetu Ochrony Roślin PAN pt. „*Chwasty odporne na herbicydy – biologia, identyfikacja i strategia zapobiegania odporności*” w ramach XLVII Sesji Naukowej IOR w 2007 r (**II.K.1**).

Od początku badań nad odpornością owsa głuchego na herbicydy poszukiwałam metod wczesnej identyfikacji odporności, które byłyby alternatywą dla czasochłonnych i pracochłonnych testów biologicznych. Interesowała mnie ekspresja wybranych parametrów fluorescencji chlorofilu *a*, związanej z fazą jasną fotosyntezy, u biotypów owsa głuchego (**II.A.17**, **II.D.6**, **II.D.15**, poster **III.B.5**). Stwierdziłam, że parametr *F<sub>vj</sub>*, informujący o ilości zamkniętych centrów reakcji w stosunku do wszystkich centrów reakcji fotosystemu II, które mogą być zamknięte, osiąga wyższe wartości u biotypów owsa odpornych na fluazyfop-P, w stosunku do biotypów wrażliwych, w 48 godzin od oprysku herbicydem. Jednocześnie obserwowałam spadek wartości wskaźnika *F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>*, określającego maksymalną wydajność fotochemiczną PSII, u biotypów odpornych. Między tymi dwoma wskaźnikami występuje korelacja; obserwowany wzrost wartości *F<sub>vj</sub>* może wskazywać na uruchomienie systemów ochronnych w PSII u biotypów odpornych traktowanych herbicydem (**II.D.15**).

Za szczególnie cenną publikację, dotyczącą metod wczesnej identyfikacji odporności owsa głuchego na fenoksaprop-P i dichlofop, uważam badania prezentowane w formie posteru w trakcie *14th Congress of the Federation of European Societies of Plant Biology* (**III.B.3**) i opublikowane w czasopiśmie z listy JCR *Thermochimica Acta* (**II.A.1**), w których wykazałam istotne różnice w ilości ciepła, mierzonego za pomocą kalorymetrii izotermicznej, emitowanego z ziarniaków owsa głuchego kiełkujących w obecności wodnych roztworów każdego z herbicydów. Świadczy to o ich wpływie na przebieg procesów metabolicznych u biotypów odpornych i wrażliwych. Wyraźne zmiany w ilości ciepła emitowanego z kiełkujących ziarniaków chwastu notowane były już po 10 godzinach kontaktu z fenoksapropem i 25 godzinach kontaktu z dichlofopem. Co więcej, poziom ciepła emitowanego z siewek biotypu odpornego był istotnie wyższy od emisji ciepła z siewek wrażliwych na herbicydy. Powyższe wyniki zostały rozwinięte w publikacji **II.A.11**, w której analizowano wpływ ciepła z ziarniaków *Lolium rigidum* kiełkujących w obecności fenoksapropu-P, odnotowując analogiczne wzory emisji ciepła z siewek chwastu odpornego i wrażliwego w kontakcie z herbicydem, jak w pracy **II.A.1**. Publikacje **II.A.1** i **II.A.11** oraz anglojęzyczna publikacja nt. stanu odporności owsa głuchego na herbicydy w Polsce południowo-wschodniej (**II.A.3**) zostały umieszczone w wykazie *Herbicide-Resistant Reference Database* na stronie Internetowej Heap I. *The International Survey of Herbicide Resistant Weeds* ([www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)).

Problematykę odporności chwastów na herbicydy planuję rozwijać w kolejnych badaniach, m. in. poprzez udział w złożonym przez Prof. Tadeusza Praczyka z IOR-PIB grantie do NCBiR w III konkursie BIOSTRATEG pt. „*Strategia przeciwdziałania uodparnianiu się chwastów na herbicydy jako istotny czynnik zapewnienia zrównoważonego rozwoju agroekosystemu*”, w którym jestem jednym z głównych wykonawców.

Drugie główne zagadnienie badawcze, związane z wykorzystaniem allelopatycznych oddziaływań roślin do regulacji zachwaszczenia, rozwijałam początkowo pod opieką prof. Ewy Stupnickiej-Rodzyńkiewicz, będąc w latach 2002-2004 wykonawcą w grantie badawczym pt. „Wykorzystanie oddziaływań allelopatycznych roślin do ograniczania zachwaszczenia kukurydzy” (Nr 6 P06R 010 21). W publikacjach z tego zakresu analizowany był wpływ mulczów i wyciągów wodnych z roślin-donorów związków allelopatycznych: gorczycy białej, gryki zwyczajnej, owsa siewnego, jęczmienia jarego i żyta oraz wpływ kwasów fenolowych z tych gatunków na zachwaszczenie kukurydzy oraz początkowy wzrost wybranych gatunków chwastów. Realizowane były zarówno eksperyment polowy (prace **II.D.3**; **II.D.4**; **II.D.9**), jak i wazonowe (prace **II.A.2**; **II.A.4**; **II.D.5**), w których stwierdzono zróżnicowaną reakcję roślin-akceptorów na związki allelopatyczne, zależną od gatunku rośliny-donora, terminu jego aplikacji oraz dawki tych związków. W pracy **II.D.17** przebadalam szczegółowo, w warunkach eksperymentu polowego, wpływ mulczów z roślin-donorów na zawartość substancji fenolowych w glebie. Stwierdziłam najwyższą koncentrację związków fenolowych ogółem w glebie z inkorporowanym mulczem z owsa, a szczegółowa analiza kwasów fenolowych wykazała, że w glebie z dodatkiem mulczów najliczniej występował kwas ferulowy. W pracy wykazałam też, że po 21 dniach od inkorporacji mulczów z glebą obserwowano istotne zmniejszenie liczby chwastów w kukurydzy, szczególnie w obiektach z inkorporowanymi mulczami z owsa, jęczmienia i gorczycy. Wyniki otrzymane w trakcie realizacji powyższego grantu były prezentowane w trakcie wielu konferencji międzynarodowych, w tym *Second European Allelopathy Symposium*, gdzie prezentowałam poster (**III.B.1**), *XIIème Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes* w Dijon (**III.B.2.a-b**) i *23rd German Conference on Weed Biology and Weed Control* w Stuttgarcie (**III.B.6.a**).

Udział w grantie badawczym i zainteresowanie roślinnymi związkami o potencjale biologicznym były inspiracją do napisania pracy przeglądowej na ten temat (**II.D.10**), w której usystematyzowałam i scharakteryzowałam preparaty naturalne pochodzenia roślinnego (alleloherbicydy) i te, w których biologicznie czynną funkcję pełnią patogeny (bioherbicydy). W dwóch kolejnych pracach z zakresu allelopatii omówiony został wpływ oprysków wyciągami wodnymi z wrotyczu pospolitego, pokrzywy zwyczajnej i chrzanu pospolitego, czyli gatunków towarzyszących zbiorowiskom roślinnym z inwazyjnymi nawłociami – kanadyjską i późną, na ich początkowy wzrost. Odnotowano, że najwięcej uszkodzeń części nadziemnych i największą redukcję biomasy u obu gatunków nawłoci powoduje oprysk wyciągami z chrzanu w stężeniu 20% (**II.D.32**). W kolejnej publikacji analizowałam wpływ wyciągów wodnych z ziół (*Matricaria chamomilla* L., *Hypericum perforatum* L., *Achillea millefolium* L. i *Urtica dioica* L.) w stężeniach 0,5-8,0% na kiełkowanie miotły zbożowej (*Apera spica-venti* (L.) P.Beauv) i komosy białej (*Chenopodium album* L.) (**II.D.34**). Stwierdziłam, że 8,0% wodny ekstrakt z pokrzywy najsilniej hamował kiełkowanie obu gatunków chwastów. Ponadto, w obecności wodnych ekstraktów z ziół inicjacja procesu kiełkowania nasion chwastów była opóźniona o 12-72 godziny, w porównaniu do roślin kontrolnych kiełkujących w obecności wody.

Równoległe z podejmowaniem nowych tematów badawczych nad zjawiskiem allelopatii rozwijałam swój warsztat naukowy. Z nowymi metodami badania allelopatycznych oddziaływań roślin uprawnych na chwasty, w warunkach laboratoryjnych i polowych, zapoznałam się w trakcie krótkoterminowego stażu odbytego w roku 2008 pod kierunkiem prof. Heleny Gawrońskiej w Samodzielnym Zakładzie Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu SGGW w Warszawie. Z kolei z nowymi metodami pozyskiwania ekstraktów roślinnych do badań allelopatycznych zapoznałam się podczas stażu pod kierunkiem dr hab. Hanny Gołębiowskiej w Zakładzie Herbolgii i Technik Uprawy Roli IUNG PIB we Wrocławiu w roku 2015. Oddziaływania allelopatyczne leżą też u podstaw proponowanego osiągnięcia naukowego, w którym analizuję fitotoksyczny potencjał olejków eterycznych, szczególnie tych wydestylowanych z roślin olejkowych rosnących w umiarkowanym klimacie Polski. Realizacja badań z tego zakresu była wsparta otrzymanym w roku 2013 stypendium w ramach Własnego Funduszu Stypendialnego Rektora dla Pracowników UR w Krakowie. Wyniki badań, oprócz publikacji naukowych (**b.1-b.8**), prezentowałam na wielu konferencjach jako referaty (**II.K.2-4, II.K.7**) oraz w sesjach posterowych (**III.B.14; III.B.18; III.B.30; III.B.33.a; III.B.34.a; III.B.35**). Zamierzam dalej rozwijać badania nad fitotoksycznym potencjałem olejków eterycznych, m. in. w roku 2017 aplikuję o stypendium z programu „*Le-Studium Smart Loire Valley Programme*”, w ramach którego planuję przeprowadzić cykl badań pt. „*Biological effects of essential oils*”, które chciałabym realizować we współpracy z drem Christophe Hano z Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures, Universite d'Orleans.

W trakcie pracy w macierzystej Katedrze brałam udział w innych badaniach z zakresu herbolgii. Część z nich dotyczyła rozmieszczenia ekspansywnych i inwazyjnych gatunków chwastów, w kontekście stanu zagrożenia upraw w Małopolsce przez *Amaranthus retroflexus* (**II.D.2**), *Avena fatua* i *Galinsoga* sp. (**II.D.20**). Ponadto zajmowałam się gatunkami z rodzaju *Solidago* sp. pojawiającymi się na polach uprawnych o ekstensywnym sposobie użytkowania (**II.D.23**), czy gatunkiem *Calystegia sepium*, wkraczającym na pola uprawne z kukurydzą (**II.D. 35**). Wyniki tych badań były także prezentowane w trakcie licznych konferencji naukowych w formie posterów lub wygłaszanych doniesień (**III.B.12.c; III.B.15; III.B.26.a; III.B.28.a; III.B.29; III.B.31; III.B.34.b**).

Biologia chwastów, a szczególnie pierwsze etapy ontogenezy – kiełkowanie, były również tematem moich zainteresowań naukowych. Pierwsze doświadczenia z tego zakresu dotyczyły oceny wpływu warunków świetlnych i termicznych na kiełkowanie odmian botanicznych owsa głuchego (**II.D.14 i II.D.19**, wygłaszane doniesienie **III.B.24**). Wykazałam w nich, że kiełkowanie ziarniaków chwastu przebiega intensywniej w ciemności i w wyższej temperaturze oraz, wspierając się analizą kanoniczną, że poszczególne odmiany botaniczne owsa głuchego znacznie różnią się energią kiełkowania przy różnych kombinacjach światła i temperatury. Metody badania procesu kiełkowania chwastów, ze szczególnym uwzględnieniem biologii kiełkowania *Solidago gigantea*, rozwijałam w trakcie miesięcznego stażu w Katedrze Fizjologii Roślin i Biotechnologii UWM w Olsztynie pod kierunkiem dr hab. Anny Bochenek, realizując w trakcie stażu eksperyment laboratoryjny, czego efektem jest publikacja **II.A.14**

oraz postery **III.B.11** i **III.B.28.b**. Rezultatem badań jest stwierdzenie, że nasiona *S. gigantea* nie wykazują symptomów spoczynku i charakteryzują się wysokim wigorem, niezależnie od warunków oraz długości okresu zalegania w podłożu, co może być związane z wysokim stosunkiem sacharozy do heksozy w nasionach oraz ich wyraźną wrażliwością na kwas abscysynowy. Te właściwości nasion mogą leżeć u podstaw jednego z mechanizmów inwazyjności *S. gigantea*.

Badania z zakresu kiełkowania innego bardzo inwazyjnego gatunku – *Heracleum Sosnowskyi*, prowadzone w ciągu kolejnych 5 lat w warunkach polowych, zostały opublikowane w czasopiśmie *Weed Research* (**II.A.15**). W toku badań stwierdzono, że żywotność nasion barszczu Sosnowskiego wynosi maksymalnie pięć lat, z czego większość z nich kiełkuje wiosną w pierwszym roku po rozsianiu z rośliny matecznej. Ponadto w publikacji przedstawiono różne sposoby kontroli *H. Sosnowskyi*, stwierdzając, że najskuteczniejszą metodą jest kontrola chemiczna, z użyciem glifosatu i flazasulfuronu, prowadzona systematycznie przez pięć kolejnych lat. Wykazano ponadto, że mechaniczne usuwanie kwiatostanów pobudza rośliny barszczu do wytwarzania kolejnych organów generatywnych w następnym sezonie wegetacyjnym, wskutek czego zabieg koszenia barszczu jest nieskuteczny (**II.A.15**).

Problematykę kiełkowania chwastów rozwijam nadal jako aktywny członek grupy roboczej „*Germination and early growth*” w ramach Europejskiego Towarzystwa Herbologicznego (EWRS). W roku 2008 uczestniczyłam w spotkaniu roboczym tej grupy (tzw. workshop) w Perugii, na którym prezentowałam wyniki swoich badań w formie referatu pt. „*Influence of light and temperature on Avena fatua and Bromus secalinus germination*”. Obecnie jestem jednym z uczestników międzynarodowego zespołu badawczego wykonującego w latach 2016-2018 eksperyment nad ekofizjologicznymi aspektami kiełkowania lokalnych i referencyjnych populacji *Echinochloa crus-galli* i *Avena fatua*.

W roku 2009 zostałam uhonorowana półrocznym stypendium naukowym Fundacji A. S. Dekaban, które realizowałam w laboratorium ekofizjologicznym Prof. M. K. Upadhyaya na Wydziale Land and Food Systems, University of British Columbia w Vancouver. W ramach stypendium zapoznałam się z metodami badania symbiozy roślin z arbuskularnymi grzybami mikoryzowymi. Badałam wpływ dogłębowej aplikacji herbicydu izoksafutolu na rozwój grzyba *Glomus intraradices* (obecnie pod nazwą *Rhizophagus irregularis*) w korzeniach kukurydzy (**II.A.5**) stwierdzając, że aplikacja herbicydu nie zaburza symbiozy grzyba i kukurydzy. Wyniki te były także prezentowane w formie posteru (**III.B.8**) w trakcie *50th Annual Meeting of Weed Science Society of America* w Denver, USA. W roku akademickim 2009/2010 zostałam zaproszona do kontynuowania pracy w laboratorium Prof. Upadhyaya, jako *Visiting lecturer*, wykonując kolejne badania nad wpływem stresów abiotycznych na zawiązywanie symbiozy arbuskularnej u wybranych gatunków chwastów. Efektem współpracy była kolejna publikacja (**II.D.27**), w której wykazałam istotny wpływ podwyższonego promieniowania ultrafioletowego na osłabienie symbiozy pomiędzy grzybami a dwoma gatunkami chwastów – *Berteroa incana* (L.) DC. i *Bromus tectorum* L., co ujawniało się zmniejszeniem liczby strzępek i arbuskuli grzybów w korzeniach obu gatunków. Prowadziłam

też inne badania z zakresu wpływu promieniowania UV-B na wzrost i rozwój *B. incana* stwierdzając, że pod wpływem podwyższonego poziomu promieniowania UV-B rośliny w fazie rozety liściowej nie wykazują symptomów zmian morfologiczno-fizjologicznych części nadziemnych, natomiast istotnej redukcji ulega biomasa korzeni (**II.D.22**). W trakcie pobytu w laboratorium Prof. Upadhyaya byłam współinicjatorką i przeprowadziłam eksperymenty dotyczące fitotoksycznego działania olejku goździkowego i jego głównych składników względem *Ch. album* i brokołu. Rezultaty tych badań stanowią część proponowanego przeze mnie osiągnięcia naukowego, co jest opisane w poprzedniej części Autoreferatu (**b.1**).

Jako pracownik Katedry Agrotechniki i Ekologii Rolniczej (wcześniej Ogólnej Uprawy Roli i Roślin) podejmowałam też badania z zakresu oddziaływania czynników agrotechnicznych i klimatycznych na plonowanie i rozwój zbóż jarych w mieszankach (**II.D.18** i **II.D.21**), wpływ mineralnego nawożenia fosforem oraz w kombinacji z kwasem gibberelinowym na plonowanie lucerny (**II.D.29**) i w kombinacji z bakteriami zwiększającymi przyswajalność fosforu na plonowanie rzepaku ozimego (**II.A.8**). Analizowałam także plon i wybrane parametry energetyczne (**II.D.30**) oraz wskaźniki ekonomiczne uprawy róży bezkolcowej (**II.D.33**).

W okresie ostatnich 7 lat zatrudnienia współpracuję naukowo z zespołem badawczym Prof. Tadeusza Zająca z Zakładu Szczegółowej Uprawy Roślin (Instytut Produkcji Roślinnej), UR w Krakowie. Pierwsze wspólne publikacje, realizowane przez nasz zespół, były pracami przeglądowymi, dotyczącymi charakterystyki cech morfologicznych i rolniczych lucern (**II.D.12** i **II.D.16**). W kolejnych publikacjach przeanalizowano szczegółowo morfologiczno-produkcyjne determinanty plonowania różnych odmian rzepaku ozimego i grochu siewnego oraz plonowanie zasiewów mieszanych wybranych gatunków roślin. Potwierdzono statystycznie, że na plon rzepaku ozimego na poziomie łąnu w najwyższym stopniu wpływa udział w obsadzie roślin dużych i silnie rozgałęzionych (**II.D.25** i **II.D.26**), natomiast na poziomie rośliny – liczba łuszczyń na bocznych rozgałęzieniach, szczególnie tych z kategorii bardzo dużych, dużych i średnich (**II.A.6**). W publikacji dotyczącej rozwoju łąnu grochu wykazano statystycznie, że długość i masa strąka są uzależnione od jego pozycji na pędzie, przy czym największe strąki formują się w dolnych częściach pędu – na pierwszym i drugim węźle (**II.A.7**). W kolejnej pracy (**II.A.13**) wyznaczono, za pomocą drzew regresyjnych CART, główne determinanty masy nasiona grochu w warunkach Polski południowej, którymi są warunki hydrotermalne panujące w terminie od siewu do wschodów roślin, a następnie od wschodów do dojrzałości, a także długość strąka i odmiana grochu (**II.A.13**). Analizowano ponadto rozwój, konkurencyjność i produktyjność mieszanek grochu siewnego (forma ogólnoużytkowa lub pastewna) z lnem oleistym, przy doborze komponentów do mieszanki na podstawie podobnej wysokości roślin i przy równym ich procentowym udziale. Wykazano, że w mieszankach groch cechuje się większą agresywnością w stosunku do lnu, a ich plonowanie jest silnie uzależnione od przebiegu pogody w sezonie wegetacyjnym. Lepiej plonuje mieszanka skomponowana z formy pastewnej grochu odm. Phönix i lnu odm. Barbara (**II.A.10**). Analiza systemu korzeniowego w mieszankach lnu oleistego z różnymi gatunkami roślin bobowatych wykazała, że skutek konkurencji międzygatunkowej obniża się względna



masa korzeni roślin, co rzutuje na stosunek masy korzeni do części nadziemnych (**II.D.31**). W pracy **II.A.12** analizowano z kolei parametry wzrostu i rozwoju zbóż ozimych (jęczmień, żyto, pszenica i pszenżyto) w siewach czystych i mieszanych (jęczmień + żyto i pszenica + pszenżyto; każda mieszanka z udziałem komponentów: 67% + 33% i 50% + 50%). Wykazano wyrównywanie się wysokości roślin w łanie poszczególnych mieszanek, będące efektem plastyczności źdźbeł zbóż, co wpływa na mniejszy stopień wylegania łanu. Wykazano ponadto, że dwugatunkowe mieszanki zbóż ozimych plonują lepiej od ich komponentów w siewach czystych, szczególnie mieszanka żyta i jęczmienia przy udziale komponentów 50:50, zaś przy udziale komponentów 67:33 – mieszanka pszenicy z pszenżytem. W pracy **II.A.9** szczegółowo analizowano rozkład biomasy w poszczególnych międzywęźlach zbóż jarych i ozimych i jej straty w zależności od wysokości cięcia. Stwierdzono, że zboża koncentrują największą biomasę, w przeliczeniu na 1 cm źdźbła, w pierwszym (jęczmień jary i owies) i drugim międzywęźlu (pszenica ozima i pszenżyto ozime), co wpływa na istotne straty biomasy przy cięciu słomy powyżej 15 cm.

### Podsumowanie bibliometryczne osiągniętego dorobku publikacyjnego

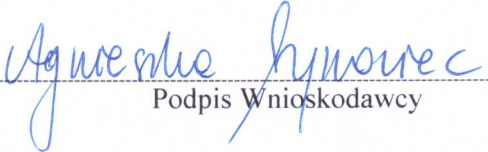
Mój dotychczasowy dorobek naukowy składa się z **58** publikacji w układzie pełnych prac naukowych, z czego **21** opublikowano w czasopismach znajdujących się w bazie JCR. Są to czasopisma: Acta Physiologiae Plantarum; Canadian Journal of Plant Science; European Journal of Agronomy; Field Crops Research; Industrial Crops and Products; International Agrophysics; Journal of Applied Botany and Food Quality; Journal of Essential Oil Bearing Plants; Journal of Pest Science; Journal of Plant Diseases and Protection; Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca; Thermochemica Acta; Weed Research. Weed Science; Weed Technology. Ponadto jestem współautorem dwóch rozdziałów w monografii anglojęzycznej oraz współautorem **37** recenzowanych prac naukowych, które nie znajdują się w bazie JCR. Przedstawione w Tabeli 4 dane bibliometryczne dokumentują mój rozwój naukowy po doktoracie.

Tabela 4. Dane bibliometryczne osiągniętego dorobku naukowego przed i po doktoracie

Wyszczególnienie	Przed doktoratem			Po doktoracie			Łącznie		
	liczba	pkt. MNiSW <sup>1</sup>	IF	liczba	pkt. MNiSW <sup>1</sup>	IF	liczba	pkt. MNiSW <sup>1</sup>	IF
Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego	--	--	--	8	201	10,588	8	201	10,588
Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie JRC	0	0	0	15	370	19,281	15	370	19,281
Publikacje naukowe w czasopismach innych niż znajdujące się w bazie JRC	3	6	0	22	147	0	25	153	0
Publikacje naukowe w czasopismach recenzowanych, które nie znalazły się na liście czasopism punktowanych MNiSW z dn. 31.12.2014	2	0	0	8	0	0	10	0	0
<b>RAZEM</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>53</b>	<b>718</b>	<b>29,869</b>	<b>58</b>	<b>724</b>	<b>29,869</b>

Według bazy Web of Science h-indeks prac z mojego dorobku naukowego wynosi obecnie **4**. Zgodnie z załącznikami komunikatu MNiSW w sprawie wykazu czasopism naukowych łączna punktacja mojego dorobku naukowego, zgodnie z rokiem opublikowania pracy, wynosi **724** pkt. Po wyłączeniu 8 prac wchodzących w skład przedstawianego osiągnięcia naukowego mój pozostały dorobek naukowy stanowi **50** prac naukowych o łącznym IF **19,281** i punktacji MNiSW **523** pkt.

Kraków, 17.03.2017 r.

  
-----  
Podpis Wnioskodawcy