

Autoreferat

Dr Wojciech Bąba
Instytut Botaniki
Wydział Biologii i Nauk o Ziemi
Uniwersytet Jagielloński
ul. Lubicz 46
31-512 Kraków
e-mail: wojciech.baba@uj.edu.pl
tel. 607 799 324

Kraków, maj 2016

Informacja o wykształceniu i przebiegu zatrudnienia**DANE OSOBOWE:**

IMIONA	Wojciech, Jarosław
NAZWISKO	Bąba
DATA I MIEJSCE URODZENIA	19.07.1972, Chrzanów
ADRES SŁUŻBOWY	Instytut Botaniki, Zakład Ekologii Roślin, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński; ul. Lubicz 46, 31-512 Kraków
TELEFON	607 799 324
FAX	(12) 663 23 83
E-MAIL	wojciech.baba@uj.edu.pl

Informacja o wykształceniu i przebiegu zatrudnienia

- 2001:** doktor nauk biologicznych: Instytut Ochrony Przyrody PAN, Kraków (29.11.2001). Praca doktorska pt. „Ekologiczne podstawy ochrony aktywnej i kształtowania ekosystemów muraw kserotermicznych w Ojcowskim Parku Narodowym i jego otulinie”; promotor – prof. dr hab. Stefan Michalik, recenzenci – prof. dr hab. Zbigniew Dzwonko oraz prof. dr hab. Kazimierz Zarzycki
- 1996:** Magister biologii: Katedra Geobotaniki i Ochrony Przyrody, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski (20.06.1996r.). Praca magisterska pt. „Flora i roślinność górnego odcinka doliny potoku Chechło”; promotor – prof. dr hab. Stanisław Wika
- 1991– 1996:** Studia na specjalności Biologia Ogólna na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. Pracownia specjalistyczna z geobotaniki i ochrony przyrody
- 1986 – 1990:** Nauka w Liceum Ogólnokształcącym w Chrzanowie w klasie o profilu biologiczno-chemicznym.

PRACA ZAWODOWA:

- 2007– obecnie** adiunkt naukowo-dydaktyczny, Zakład Ekologii Roślin, Instytut Botaniki UJ, Kraków. W czasie zatrudnienia urlop dla poratowania zdrowia (1.09.2014– 1.03.2015)
- 2001-2007** adiunkt, Instytut Ochrony Przyrody, Kraków, od 2004 r. kierownik Pracowni Botanicznej w Zakładzie Ochrony Szaty Roślinnej
- 2000-2001** asystent, Instytut Ochrony Przyrody, Kraków
- 1995-2000** asystent naukowo-badawczy ds. flory, Ojcowski Park Narodowy

MOJE ZAINTERESOWANIA NAUKOWE

- **ekologiczne i mikroewolucyjne mechanizmy ekspansji rodzimych gatunków roślin**
- **długoterminowa dynamika muraw naskalnych i kserotermicznych** - prowadzę długoterminowe (1996-obecnie) badania na stałych powierzchniach w Ojcowskim PN
- **ekologiczne podstawy ochrony i kształtowania muraw kserotermicznych,**
- **zastosowanie metod statystycznych, numerycznych i bioinformatycznych w analizie i modelowaniu procesów biologicznych (m.in. analizy/programowanie w R CRAN, Matlab/Octave, ArcGIS)**
- **eko-fizjologiczne przystosowania roślin do różnych form stresu**
- **związki pomiędzy warunkami fizykochemicznymi podłoża i roślinnością oraz organizmami glebowymi**

UKOŃCZONE KURSY ZAWODOWE I INNE (WYBRANE)

Kurs „Analysis of Phytosociological Data using the Juice Program”, Masaryk University, Faculty of Sciences, Brno, Czech Republic; 2006 r.

Kurs „Methods in Population Biology” – Uniwersytet Karola, Wydział Nauk Przyrodniczych, Praga, Czech Republic, 2010 r.

Warsztaty „Species distribution models in R” - Freising-Weihenstephan, Germany, 19-21 września 2011 r.

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. z 2014 r. poz. 1852. ze zm.)

Cykl 5 jednolitych tematycznie, oryginalnych publikacji naukowych na temat:

Eko - fizjologiczne i genetyczne mechanizmy ekspansji *Brachypodium pinnatum* w krajobrazie rolniczym

[P1] Bąba W., Kalaji H.M., Kompała-Bąba A., Goltsev V. (2016) Acclimatization of photosynthetic apparatus of tor grass (*Brachypodium pinnatum*) during expansion. PLOS ONE,

doi: 10.1371/journal.pone.0156201

IIF = 3.234_(ISI-2015) /5- year IF = 3.703 / **40** (punktacja MNiSW₂₀₁₅)

[P2] Bąba W., Kurowska M., Kompała-Bąba A., Wilczek A., Długosz J., Szarejko I. 2012. Genetic diversity of the expansive grass *Brachypodium pinnatum* in a changing landscape: effect of habitat age. Flora 207(5): 346-353.

IF = 1.716_(ISI-2012) /5- year IF = 1.663 / **25** (punktacja MNiSW₂₀₁₅)

[P3] Bąba W., Kurowska M., Kompała-Bąba A., Wilczek A., Długosz J., Szarejko I. 2012. Genetic diversity of populations of *Brachypodium pinnatum* (L) P. Beauv.: expansive grass in a fragmented landscape. Polish Journal of Ecology (Pol.J.Ecol): 60(1): 31-40.

IF = 0.506_(ISI-2012) /5- year IF = 0.703 / **15** (punktacja MNiSW₂₀₁₅)

[P4] Bąba W. 2005. The small-scale species mobility in calcareous grasslands – example from southern Poland. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 74(1): 53-64.

IF = 0.220_(ISI-2005) /5- year IF = 0.248 / IF = 1.174_(ISI-2014) / **20** (punktacja MNiSW₂₀₁₅)

[P5] Bąba W. 2003. How *Brachypodium pinnatum* influence the species richness of the semi-natural xerothermic grasslands on calcareous rocks: 403-417. L. Frey (ed.) Problems of grass biology. W. Szafer Institute of Botany. Polish Academy of Sciences Kraków.

IF = 0_(ISI-2012) /5- year IF = 0; **7** (punktacja MNiSW₂₀₁₅)

Łączny IF = 5.676_(ISI - 2014) /5- year IF = 6.317; 107 punktów MNiSW

Oświadczenie dotyczące prac współautorskich

W przypadku wszystkich prac współautorskich (**P2-P3, wykonanych w oparciu o grant MNiSW nr N303 101 31/3363 „Wzorce zmienności genetycznej populacji gatunków ekspansywnych w procesie kolonizacji siedlisk w zależności od czasu ich powstania i stopnia izolacji przestrzennej, którego byłem kierownikiem**) byłem twórcą koncepcji badań w tym: pracy - tematu, celów, wyboru gatunku i terenu badań. Opracowałem także statystycznie dane z analiz genetycznych AFLP, jak i dane ekologiczne. Zebrałem materiał do badań genetycznych i ekologicznych. Napisałem również większą część tekstu, z wyłączeniem metodyki dotyczącej procedur AFLP. Swoją procentowy udział w obu pracach oceniam na 60 %.

W przypadku publikacji **P1** byłem twórcą koncepcji projektu a także zaprojektowałem schemat eksperymentalny, przeprowadziłem badania terenowe: zebrałem materiał, wykonałem pomiary morfometryczne liści, zawartości chlorofilu, pomiary SPAD, oraz analizy glebowe. Opracowałem statystycznie dane, zaś wyniki zilustrowałem samodzielnie wykonanymi rycinami (oprócz ryc 3.) i tabelami. Napisałem tekst pracy. Procentowy udział W. Bąba (70%), M.H. Kalaji (10%), A. Kompała-Bąba (10%), V. Goltsev (10%).

Załącznik 6 zawiera oświadczenia Współautorów o udziale w poszczególnych pracach.

Zarys problemu:

Jednym z głównych kierunków moich zainteresowań badawczych są mechanizmy ekspansji rodzimych gatunków flory. Procesy inwazji oraz ekspansji stanowią swego rodzaju 'eksperymenty natury', pozwalające na zrozumienie procesów ekologicznych, fizjologicznych, ewolucyjnych oraz mechanizmów adaptacji gatunków do opanowywanych siedlisk (Kinlan & Hastings 2005). Na procesy ewolucyjne zachodzące w populacjach w trakcie kolonizacji nowego siedliska oraz dalszej ekspansji gatunku, wpływa bardzo wiele czynników (Colautti & Lau 2015). Do najważniejszych z nich zalicza się: procesy stochastyczne związane z dyspersją/izolacją populacji w krajobrazie, historię kolonizacji z jednego lub wielu źródeł diaspor (Dlugosch & Parker 2008; Cristescu 2015; Dlugosch *et al.* 2015), późniejszą selekcję genotypów i ich plastyczną aklimatyzację/adaptację pod wpływem warunków siedliskowych oraz interakcje z osobnikami tego samego i innych gatunków.

Obiekt badań

Jako gatunek modelowy do badań wybrano kłosownicę pierzastą, *Brachypodium pinnatum* (L.) P. Beauv., klonalny gatunek trawy, którego ekspansja doprowadziła do znacznego spadku różnorodności muraw kserotermicznych w Europie Zachodniej i środkowej (Willems & Vannieuwstadt 1996). Murawy kserotermiczne należą do najbogatszych w gatunki zbiorowisk Europy grupujących szczególnie wiele gatunków rzadkich i ginących, dlatego objęte są ochroną w ramach sieci Natura 2000 (Anonymus 2003). Omawiany gatunek występował niegdyś z niskim pokryciem w użytkowanych ekstensywnie murawach kserotermicznych, zaroślach i widnych lasach grądowych (Bobbink & Willems 1987; Mojzes *et al.* 2003). Jego ekspansja wiąże się ze zmianą lub zaprzestaniem tradycyjnego użytkowania muraw to jest wypasu lub koszenia, co postępowo stopniowo od drugiej połowy XX wieku. W efekcie uruchomiony został proces sukcesji wtórnej muraw, którego pierwszym etapem był często wzrost udziału gatunków klonalnych, w tym przede wszystkim *Brachypodium pinnatum* (Bąba 2003; Falińska *et al.* 2010; Piqueray & Mahy 2010; Dujardin *et al.* 2011). Gatunek ten wkracza także na tereny porolne, zwłaszcza na opuszczone pola uprawne, gdzie po ok. 20 latach tworzy rozległe, zwarte niemal jednogatunkowe płyty. Można sądzić, że wysokie tempo ekspansji *Brachypodium pinnatum* wynika z jego dużych zdolności do dyspersji oraz konkurencji, w szczególności z plastycznej adaptacji do zmiennych warunków świetlnych (Mojzes *et al.* 2003), efektywnego wykorzystania zasobów, zwłaszcza fosforu i azotu (Bobbink & Willems 1987, 1988), zdolności do szybkiego rozrostu lateralnego klonów i tworzenia łąnów silnie zagęszczonych pędów, połączonych długimi rozłogami (Pottier & Evette 2010), co umożliwia trwałą kolonizację zajętej przestrzeni (de Kroon & Knops 1990).

Celem prac, składających się na osiągnięcie habilitacyjne było:

1. Określenie wpływu *Brachypodium pinnatum* na skład florystyczny i bogactwo gatunkowe muraw kserotermicznych (**publikacja P5**)
2. Analiza dynamiki *Brachypodium pinnatum* oraz wybranych gatunków murawowych w płatach bogatych florystycznie muraw kserotermicznych (**publikacja P4**)
3. Określenie, jak zmieniają się wzorce zmienności genetycznej i genotypowej populacji *Brachypodium pinnatum*, a w szczególności (**publikacje P2 - P3**):
 - 3.1. ustalenie, jak fragmentacja siedlisk w krajobrazie rolniczym wpływa na dyspersję, a pośrednio także na różnorodność i zróżnicowanie genetyczne populacji *Brachypodium pinnatum* i czy jest ona przeszkodą w ekspansji tego gatunku?

3.2. zbadanie, czy proces ekspansji kłosownicy w krajobrazie rolniczym jest wynikiem:

- (a) kolonizacji otwartych siedlisk z wielu źródeł i towarzyszy mu zmniejszenie się różnorodności genetycznej i genotypowej populacji (selekcję genotypów)
- (b) kolonizacji z jednego lub najwyżej tylko kilku źródeł i następującego po niej wzrostu różnorodności genetycznej i genotypowej populacji poprzez sukcesywną kolonizację siedlisk przez nowe genotypy

3.3. ustalenie, czy istnieje związek, między obserwowanymi wzorcami zmienności genetycznej i genotypowej a tempem reprodukcji generatywnej i pomnażania wegetatywnego - cechami historii życia, kluczowymi dla utrzymania wysokiego tempa wzrostu populacji (λ) oraz trwałej kolonizacji terenu.

4. Poznanie mechanizmów aklimatyzacji aparatu fotosyntetycznego do warunków siedliskowych, zmieniających się w trakcie ekspansji *Brachypodium pinnatum* (**publikacja P1**), a w szczególności:

- 4.1. określenie, w jaki sposób parametry fluorescencji chlorofilu, związane z różnymi aspektami funkcjonowania fotoukładu II, zmieniały się z wiekiem siedliska,
- 4.2. ustalenie, czy istnieje zależność między zmiennością genetyczną/genotypową a mierzonymi i obliczonymi parametrami fluorescencji chlorofilu.

5. Opracowanie metod ograniczenia ekspansji kłosownicy pierzastej w murawach kserotermicznych (**publikacja P5**)

Teren badań

Badania przeprowadzono w centralnej części Wyżyny Krakowskiej, której zrąb tworzą wapienie górnourajskie piętra oksfordzkiego (Michalik 1983). Występuje tu ponad 300 izolowanych płątów muraw kserotermicznych w różnym wieku o wielkości od 1-5 arów do 2 hektarów. Do badań wybrano 12 obiektów, w których występowały populacje *Brachypodium pinnatum* o najlepiej udokumentowanej historii.

Szczegółowe, kilkuletnie obserwacje nad wpływem kłosownicy pierzastej na skład florystyczny i bogactwo gatunkowe muraw kserotermicznych przeprowadzono w Ojcowskim Parku Narodowym w Dolinie Prądnika na 90 poletkach, w miejscach różniących się składem

gatunkowym, udziałem *Brachypodium* oraz sposobem użytkowania [P5]. Wykazano, podobnie jak w przypadku analogicznych badań w Europie Zachodniej i Środkowej (Bobbink & Willems 1987, 1988; Willems 2001; Piqueray & Mahy 2010), że występuje silna negatywna zależność między pokryciem kłosownicy a liczbą i pokryciem wielu gatunków murawowych, a także między bogactwem gatunkowym, mierzonym wskaźnikiem H' Shannona. Negatywny ($R_s < -0.40$) wpływ zaznaczał się szczególnie wyraźnie w przypadku typowo murawowych gatunków jak: *Scabiosa ochroleuca*, *Thymus kosteleckyanus*, *Carex pediformis*, *Verbascum chaixii* subsp. *austriacum* i *Libanotis pyrenaica*. Stwierdzono również pozytywną korelację pokrycia *B. pinnatum* z pokryciem krzewów zarastających murawy, takimi jak: *Prunus spinosa* i *Cornus sanguinea* [P5].

W badanych murawach kłosownica pierzasta wpływała negatywnie na różnorodność gatunkową nie tylko poprzez szybkie zajmowanie przestrzeni i wypieranie gatunków na drodze konkurencji, lecz także w wyniku wytwarzania trudno rozkładalnej ściółki o znacznej miąższości, która uniemożliwia kiełkowanie nasion większości gatunków murawowych [P5].

Na dynamikę zbiorowisk wpływają różnorodne czynniki siedliskowe m.in.: obfitość i rozkład opadów, okresów suszy czy powodzi (Maarel E. van der 1993, 1997), a także cechy gatunków, które tworzą zbiorowisko oraz interakcje między nimi (Maarel E. van der 1997; Tamm *et al.* 2001). Bogate w gatunki zbiorowiska, złożone w większości z wieloletnich roślin o klonalnym typie wzrostu wydają się być stałe (*stable community*) w większej skali przestrzennej, pomimo wysokiego tempa wymiany gatunków w mikroskali (Herben *et al.* 1993; Sykes *et al.* 1994; Klimes 1999). Dla wyjaśnienia dynamiki zbiorowisk gatunków rocznych i dwuletnich (Maarel E. van der 1993, 1997) zaproponował 'model karuzeli', według którego gatunki przemieszczają się w obrębie płatu roślinności, zajmując kolejno wszystkie wolne mikrosiedliska. Model ten został opracowany w celu zbadania, w jakim stopniu różnice we wzorcach mobilności gatunków umożliwiają współwystępowanie wielu gatunków na stosunkowo niewielkiej powierzchni (Czaran & Bartha 1992; Rusch & van der Maarel 1992; Herben *et al.* 1997). Model karuzeli może on posłużyć jako model zerowy do testowania na ile wzorzec dynamiki poszczególnych gatunków odbiega od losowego. Pozwala również na porównanie dynamiki gatunków wpływających na strukturę zbiorowiska.

Szczegółową analizę dynamiki *Brachypodium pinnatum* oraz 33 wybranych gatunków murawowych przeprowadzono w obrębie użytkowanej od dawna murawy na Grodzisku [P4]. Na podstawie kilkuletnich obserwacji obliczono tempo 'wymiany gatunków', (**turnover, T**), średni czas pozostawiania na poletku (**residence time, RT**), średni czas pozostawiania na poletku przy założeniu

losowej dyspersji (**relative residence time, RRT**), czas 'obrotu karuzeli', czyli czas potrzebny do choćby jednorazowego pojawienia się gatunku we wszystkich poletkach (**carousel time, CT** i **relative carousel time RCT**) oraz skumulowaną frekwencję (**CF**) wyliczoną przy założeniu, że migracja i imigracja są procesami losowymi (*random reassignment model, random immigration model* (Maarel E. van der 1993, 1997; Palmer & Rusch 2001). Dynamikę gatunków w kolejnych latach, porównano za pomocą analizy zgodności (*Correspondence Analysis, CA*).

Wykazano że zbiorowisko wykazywało cechy stabilności w skali płątu (100 m²). Z drugiej strony gatunki występujące w murawie różniły się znacznie pod względem dynamiki w skali 1m²: pod względem tempa wymiany gatunków ($T = 6-68$), 'obrotu karuzeli', ($CT = 4-400$ lat), i czasu pozostawania na poletku ($RT = 0.5-21$ lat). Pozwoliło to na wyróżnienie gatunków odznaczających się niską, umiarkowaną wysoką oraz wysoką dynamiką. Pierwsze z nich tworzyły gatunki podstawowe dla zbiorowiska (**matrix, core species**; (Herben *et al.* 1993; van der Maarel & Sykes 1993; Maarel E. van der 1997) o wysokiej frekwencji jak *Carex pediformis*, *Festuca rupicola* oraz *Brachypodium pinnatum* ($CT = 60-100$, $T = 10-20$). Gatunki te decydowały o niskim tempie dynamiki całej fitocenozy. Do drugiej grupy ($CT = 25-50$, $T = 21-40$) zaliczono m.in. *Fragaria viridis*, *Origanum vulgare* czy *Dianthus carthusianorum*. Do grupy gatunków o wysokiej mobilności ($CT = 25-50$, $T = 21-40$), należą m.in. *Ranunculus bulbosus*, *Sanguisorba minor*, *Coronilla varia* i *Euphorbia cyparissias*. Z wyjątkiem pierwszych dwóch gatunków tempo dynamiki można wyjaśnić typem wzrostu wegetatywnego (typ „*Rumex acetosella*” i „*Aegopodium podagraria*”, (Klimes 1999). Ekspansja *Brachypodium* była ograniczana przez silne zróżnicowanie warunków siedliskowych oraz obecność innych gatunków. W dalszych badaniach [P4], wykazano, że populacja ta składała się z kilkunastu genotypów, pomnażających się głównie w sposób wegetatywny. Analiza zgodności (CA), w której porównano dynamikę gatunków w poszczególnych latach, również wykazała istnienie odrębnej grupy gatunków wykazujących tendencję do pozostawania na poletkach w ciągu całego okresu badań. W grupie tej znalazły się *Brachypodium pinnatum* i *Festuca rupicola*.

Obserwowana skumulowana frekwencja gatunków była istotnie niższa w porównaniu z wartościami przewidywanymi w modelach losowej migracji a także losowej imigracji. Świadczy to o ich nielosowym charakterze, choć obserwowane wartości skumulowane frekwencji *Brachypodium pinnatum* czy *Festuca rupicola*, *Vincetoxicum hirundinaria*, *Galium album* i *Euphorbia cyparissias* pokrywały się z wartościami CF przewidywanymi w modelu losowej imigracji.

W latach 2006-2009 kierowałem badaniami finansowanymi w ramach grantu MNiSW

N30310131/3363 „Wzorce zmienności genetycznej populacji gatunków ekspansywnych w procesie kolonizacji siedlisk w zależności od czasu ich powstania oraz stopnia izolacji przestrzennej”, publikacje P2 i P3).

Zróżnicowanie krajobrazu jest jednym z najważniejszych czynników wpływających na procesy demograficzne oraz genetyczne zróżnicowanie populacji gatunków. Struktura krajobrazu, będąca wynikiem działania czynników naturalnych bądź antropogenicznych ma istotny wpływ na różnorodność genetyczną populacji. Fragmentacja siedlisk może prowadzić do ograniczenia przepływu genów między subpopulacjami, a przez to do spadku różnorodności genetycznej wewnątrzpopulacyjnej i wzrostu - międzypopulacyjnej (Wade & McCauley 1988; Austerlitz *et al.* 1997; Fenart *et al.* 1997; Young & Clarke 2000; Austerlitz & Smouse 2001; Le Corre & Kremer 2003; Dlugosch & Parker 2008; Dlugosch *et al.* 2015). Z kolei izolacja przestrzenna może prowadzić do wzrostu zróżnicowania między populacjami oraz niskiej różnorodności genetycznej w ich obrębie (Wright 1931; Nei *et al.* 1975; Barrett 1996; Honnay *et al.* 2007; Barrett *et al.* 2008; Dlugosch & Parker 2008; Smouse *et al.* 2008). Modele symulacyjne oraz empiryczne często wskazują, że w populacjach zasiedlających izolowane siedliska szczególnie często obserwujemy 'efekt założyciela' (*founder effect*) oraz efekt 'wąskiego gardła' (*population bottleneck*), które mogą mieć negatywny wpływ nie tylko na populacje rzadkich (Raijmann *et al.* 1994; Avise & Hamrick 1996; Cruzan 2001; Gonzales & Hamrick 2005; Franks 2010), lecz także pospolicie występujących gatunków (Lienert *et al.* 2002; Hooftman *et al.* 2004; Galeuchet *et al.* 2005; Honnay & Jacquemyn 2007).

Z drugiej strony wyniki niektórych badań wskazują, że ekspansja *Brachypodium pinnatum* może przebiegać według zupełnie innego scenariusza, zgodnie z którym gatunki, inwazyjne nie podlegają efektowi 'wąskiego gardła', a także nie wykazują gorszego dostosowania, lub obniżonego potencjału ewolucyjnego (Slatkin 1977; Hollingsworth & Bailey 2000; Suarez *et al.* 2008; Richards *et al.* 2008; Ross & Shoemaker 2008; Fernández-Mazuecos & Vargas 2011). Dla wyjaśnienia tego zjawiska zaproponowano model kolonizacji z wielu źródeł (Bossdorf *et al.* 2005; Yang *et al.* 2008; Marrs *et al.* 2008; Rosenthal *et al.* 2008).

W celu przetestowania hipotezy, przeprowadzono badania z zastosowaniem metod analizy zmienności DNA poszczególnych osobników (*genetic fingerprint*). Próby do określenia zmienności AFLP pobierano z 12 subpopulacji *Brachypodium*: Powroźnikowa1, Powroźnikowa2, Raclawice, Willisowe Skały, Wielkie Skały, Dolina Kobyłańska, Skała Żytunia, Bolechowice, Dolina Kluczwoły, Dolina Kobyłańska, Grodzisko i Grodzisko-Onobrychis.

W celu określenia hierarchicznej struktury genetycznej populacji *Brachypodium pinnatum* użyłem molekularnej analizy wariancji (AMOVA; Peakall & Smouse 2012), zaś do porównania wzorców zmienności prążków między genotypami zastosowałem nowatorską metodę międzygrupowej analizy głównych składowych (between-PCA; Jombart 2008), która nie wymaga spełnienia założeń o równowadze Hardego-Weinberga oraz równowadze sprzężeń (*linkage equilibrium*) między loci (Jombart *et al.* 2008). Istotność różnic między (sub)populacjami testowałem permutacyjnym testem Monte Carlo. Strukturę genetyczną populacji kłosownicy badałem również przy użyciu analizy Bayesowskiej (Bayesian analysis, STRUCTURE (Pritchard *et al.* 2000; Foll *et al.* 2010), która pozwala określić prawdopodobieństwo, z jakim dany genotyp (osobnik) należy do danej grupy. W ten sposób uzyskałem pośrednią informację o przepływie genów między (sub) populacjami (Falush *et al.* 2007). Użyłem modelu zakładającego mieszany skład genetyczny osobników (*admixture model*), bez wstępnej informacji o pochodzeniu genotypów z danej populacji (*prior population probability*).

Użycie pięciu kombinacji starterów EcoRI/MseI (E-TG/M-CTC, E-TC/M-CTC, E-AT/M-CTC, E-AC/M-CTC, E-AT/M-CTG) pozwoliło na uzyskanie ogółem 517 prążków z czego 79% było polimorficznych. Procent loci polimorficznych w obrębie (sub)populacji był niższy i wynosił (38–44%). Wartości współczynnika Simpsona były istotnie niższe w populacjach z Grodziska, Doliny Będkowskiej oraz Wąwozu Bolechowickiego. Molekularna analiza wariancji (AMOVA) wykazała, że 19% zmienności jest związana ze stanowiskami, zaś zdecydowana większość wynikała ze zmienności między osobnikami w obrębie stanowisk (82.2%). Obserwowany poziom polimorfizmu jest typowy dla gatunków tego rodzaju np. *Brachypodium distachyon* (66%) (Bakker *et al.* 2009), *B. sylvaticum* (76%, (Rosenthal *et al.* 2008), lecz niższy niż dla *B. distachyon* z obszaru śródziemnomorskiego (RAPD; 96%)(Jaroszewicz *et al.* 2012). Analiza PCA potwierdziła słabe zróżnicowanie między populacjami z północno-zachodniej części terenu badań (Powroźnikowa1, 2; Raclawice) i populacjami z południowej oraz centralnej jego części (Wielkie Skały, Dolina Kobylańska, Kluczwoły, Będkowska, Skały Willisowe). Populacje z Bolechowic, Skały Żytnej oraz Grodziska tworzyły odrębne grupy. Analiza Bayesowska potwierdziła wyniki analizy PCA. Analiza wykazała, że jedynie 60% genotypów wykazywało silne nawiązania (≥ 0.9) do grupy, z której pochodziły, zaś pozostałe - do wielu grup (m.in. genotypy z populacji z Grodziska, Doliny Kluczwoły oraz Będkowskiej charakteryzowały się 'mieszane' charakterem). Test Mantela nie wykazał wpływu izolacji na zróżnicowanie genetyczne badanych populacji *Brachypodium pinnatum* ($M = 0.14$, $p < 0.45$).

Badania te wykazały, że silna i długotrwała izolacja muraw w krajobrazie rolniczym Wyżyny Krakowskiej nie stanowi przeszkody dla ekspansji kłosownicy pierzastej [P3]. Wynika z nich, że mamy do czynienia z metapopulacją, kształtowaną przez współczesne i historyczne procesy kolonizacji - ekstynkcji. W wielu opracowaniach wykazano, że w silnie heterogenicznym krajobrazie populacje gatunków o krzyżowym typie zapyłania i barochorycznymi nasionami powinny charakteryzować się wyraźną strukturą genetyczną (Honnay & Jacquemyn 2007). We wcześniejszych badaniach zmienności genetycznej *Brachypodium pinnatum* wykazano również, że gatunek ten pomimo wysokiej produkcji nasion, rozprzestrzenia się głównie na drodze pomnażania wegetatywnego (Schlapfer & Fischer 1998). Niski poziom międzypopulacyjnej zmienności genetycznej badanych populacji oraz obserwowane obfite kwitnienie i owocowanie części populacji *Brachypodium* wskazuje na istotną rolę długodystansowej dyspersji nasion i pyłku w kształtowaniu struktury genetycznej badanej metapopulacji. W oparciu o wyniki analizy Bayesowskiej można przedstawić prawdopodobny scenariusz ekspansji kłosownicy w krajobrazie rolniczym. Początkowo gatunek ten występował w obrębie starych muraw lub zarośli kserotermicznych na zboczach dolin, skąd rozprzestrzenił się na poręby zamienione na pastwiska na przełomie XIX/XX w, zaś od lat 70-tych XX w. na odłogach, na płytkiej, szkieletowej glebie. Początkowo nowe siedliska były zasiedlane przez jeden lub kilka genotypów, które w krótkim czasie rozprzestrzeniły się na drodze generatywnej z nasion powstałych w wyniku zapyłania krzyżowego pyłkiem pochodzącym z dalekiego transportu. W trakcie badań na młodych ugorach wielokrotnie obserwowano kwitnące kępy kłosownicy w odległości 0.5 – 1 km od najbliższych populacji tego gatunku.

Sukces inwazji/ekspansji gatunku zależy m.in. od liczby źródeł pochodzenia osobników kolonizujących nowe siedlisko (Barrett *et al.* 2008; Dlugosch & Parker 2008). Kolonizacja z wielu źródeł lub kolonizacja wielokrotna wydaje się zwiększać prawdopodobieństwo opanowania nowego siedliska (Novak & Mack 2005; Bossdorf *et al.* 2005; Sax *et al.* 2007; Yang *et al.* 2008; Crawford & Whitney 2010; Ramakrishnan *et al.* 2010). Różnorodność genetyczna starszych populacji jest z reguły związana z cechami historii życia gatunków, a szczególnie tempem pomnażania wegetatywnego i reprodukcji generatywnej (Hamrick & Godt 1996; Kinlan & Hastings 2005). Brak pyłku zdolnego do zapylenia kwiatów we wczesnych etapach kolonizacji może skutkować przewagą wzrostu klonalnego nad reprodukcją generatywną (Piquot *et al.* 1998; Barrett *et al.* 2008) a w skrajnych przypadkach nawet prowadzić do dominacji jednego klonu. W starszych murawach, przewaga wzrostu klonalnego oraz nasilenie konkurencji między genotypami może niwelować efekt

wcześniejszej rekrutacji siewek. W przypadku obu scenariuszy można spodziewać się wysokiej zmienności genetycznej pomiędzy populacjami, a niskiej zmienności wewnątrzpopulacyjnej (Travis & Hester 2005).

Kwerenda źródeł historycznych pisanych oraz kartograficznych, tj. map, katastrów (od końca XXVII w.) oraz zdjęć lotniczych (od końca lat 50-tych XX w.), umożliwiła identyfikację płątów '*starych muraw*', bogatych florystycznie, użytkowanych jako pastwiska od co najmniej 300 lat, '*muraw w średnim wieku*' (w wieku ok. 100 lat) oraz '*młodych muraw*' (ok. 30-50 lat) [P2]. W celu dokładnego określenia struktury przestrzennej klonów, na wszystkich powierzchniach w obrębie transektów pobrano łącznie 453 próby, w odległości od 10 cm do 39 m [P2].

W celu określenia tempa pomnażania wegetatywnego oraz reprodukcji wegetatywnej w latach 2007-2009 określono liczbę pędów wegetatywnych, generatywnych oraz średnią produkcję nasion na 1 m².

W oparciu o dane AFLP wyznaczono liczbę 'genotypów' (*multilocus lineages*, MLL; (Douhovnikoff & Dodd 2003; Meirmans & Van Tienderen 2004; Rozenfeld *et al.* 2007; Arnaud-Haond 2008) oraz różnorodność klonalną wyliczono według Dorken & Eckert (2001). Dla porównania rozkładów frekwencji ramet reprezentujących poszczególne genotypy użyłem rozkładu Pareto β (Vidondo *et al.* 1997). Wartość β wzrasta wraz ze wzrostem liczby klonów o porównywalnej wielkości, zaś maleje, gdy jeden z nich (lub kilka) uzyskuje dominację.

Ogółem spośród 453 prób wyróżniłem 314 różnych genotypów. Obserwowana różnorodność genotypowa ($G/N = 0.685$) jest wyższa, niż średnie wartości stwierdzone dla gatunków o klonalnym typie wzrostu uzyskanych dla wszystkich typów markerów DNA (0.44 (Piquot *et al.* 1998; Stehlik & Holderegger 2000) jak również dla średniej dla markerów AFLP (Honnay & Jacquemyn 2008). Liczba genotypów (G) w młodych murawach była niemal dwukrotnie większa (24-27) w porównaniu ze starymi (13-18). Najmniejszą liczbę genotypów zanotowano na Grodzisku, zaś największą na Skale Powroźnikowej 1 i 2. Wzorec ten potwierdziłem również w mikroskali: w młodej murawie stwierdzono 26 genotypów na 1m² i 6 na 10 cm², zaś w starej jedynie 10 i 1 na 10 cm². Podobny wzorec zaobserwowałem w przypadku współczynnika różnorodności klonalnej (R). Spadek liczby klonów z wiekiem murawy wiązał się także ze zmianą wzorca rozmieszczenia przestrzennego klonów. Młode populacje złożone były z wielu genotypów o podobnej wielkości ($\beta = 2.2 - 3.01$). W trakcie ekspansji dochodzi do konkurencji między klonami, prowadzącej do wzrostu dominacji niektórych z nich.

W badaniach wykazałem nieco mniejszy średni i maksymalny zasięg klonu *Brachypodium* - 1.6 m

(4 m), w porównaniu ustalonym w oparciu o analizy izoenzymów (Schlapfer & Fischer 1998). Analiza rozkładu klas wielkości klonów wykazała znaczną przewagę (87%) genotypów o ograniczonym zasięgu (≤ 1 m). Genety większe o średnicy ≤ 2 m stanowiły 9%, zaś ≤ 3 m – jedynie 4%. W starych murawach zanotowano przewagę klonów o średnicy > 1 m, zaś w młodych przewagę klonów o średnicy < 1 m.

Zmiany struktury genetycznej populacji znajdują odzwierciedlenie w *trade-off* między reprodukcją generatywną i wegetatywną. Średnia liczba pędów generatywnych oraz produkcja nasion/m² była najwyższa w murawach młodych (2743) i pośrednich (234) i gwałtownie malała w populacjach starych (40). W przypadku liczebności pędów wegetatywnych obserwowałem odwrotny trend (804 i 848 w młodych i średniowiekowych oraz 1216 w starych). Różnorodność klonalna (R) malała wraz ze wzrostem zagęszczenia pędów (Pearson $r = -0.87$, $p < 0.002$). Ponadto, im bardziej malała liczba genotypów, tym bardziej skośny był ich rozkład β (Pearson $r = -0.78$, $p < 0.002$). Z drugiej strony produkcja nasion wzrastała wraz ze wzrostem liczby klonów (Pearson $r = 0.51$, $p < 0.001$).

Na podstawie wyników można prześledzić zmiany w populacji *Brachypodium* w trakcie ekspansji: początkowo siedliska po zaburzeniach, kolonizowane są przez wiele genotypów. Kolonizacja następuje według modelu ISR/RWO (*initial seedling recruitment/recruitment in 'windows of opportunity'*), w którym nasiona kiełkują we wczesnych stadiach ekspansji lub siewki pojawiają się w sprzyjających okolicznościach, np. po okresowo występujących zaburzeniach jak po wypalaniu czy zaorywaniu muraw (Eriksson & Froborg 1996). Badania systemów korzeniowych kłosownicy wykazały, że ekspansja postępuje przez wytwarzanie niewielkich 'kęp pędów' wegetatywnych, połączonych krótkimi rozłogami (1-5 mm) i licznymi pąkami odnawiającymi. Pozwalają one na tworzenie zwartych łańców trwale wypełniających kolonizowaną przestrzeń ('*stationary clones*'; de Kroon & Knops 1990). W tym okresie obserwuje się obfite kwitnienie i produkcję nasion. W dalszych etapach ekspansji, pomimo wysokiej produkcji nasion, tempo rekrutacji siewek jest hamowane przez zwarty łań *Brachypodium*. Podobne wyniki uzyskano w pracach (Dujardin *et al.* 2011; Lembicz *et al.* 2011). Następnie, w wyniku silnego rozrostu lateralnego klonów przez wytwarzanie długich rozłogów, dochodzi do silnej selekcji klonów, w wyniku której zostają te najlepiej zaadaptowane do lokalnych warunków [P2].

Interesującym zagadnieniem są **fizjologiczne mechanizmy aklimatyzacji kłosownicy do warunków siedliskowych, zmieniających się w trakcie ekspansji (publikacja P1)**. W badaniach, obok pomiarów morfo-anatomicznych i chemicznych liści, wykorzystałem fluorescencję chlorofilu,

metodę stosowaną w badaniach fizjologii stresu roślin. Pozwala ona na szybkie i nieinwazyjne określenie wpływu różnego rodzaju stresów środowiskowych na aparat fotosyntetyczny roślin, w szczególności na stan zachowania fotoukładu II, transport elektronów oraz różnorodne procesy regulacyjne (Kalaji *et al.* 2012).

W trakcie ekspansji, obserwowano znaczne różnicowanie się cech morfo-anatomicznych liści: genotypy ze starych populacji, charakteryzowały się dłuższymi i szerszymi liśćmi, o większej suchej masie (LDM), a także większej średnicy głównej wiązki przewodzącej, większą liczbą komórek pęcherzykowatych, grubszą warstwą komórek sklerenchymatycznych, a także wyższą zawartością chlorofilu na jednostkę powierzchni. W komórkach miękiszowych liści *Brachypodium* z populacji z młodych i starych muraw zaobserwowano przyścienny układ chloroplastów, typowy dla roślin rosnących w warunkach silnego nasłonecznienia. Wielkość chloroplastów w mezofilu były istotnie mniejsza, i były one bardziej równomierne w populacjach młodych, w porównaniu ze roślinami populacji starych. Jednakże stosunek Chl a/b nie różnił się istotnie między populacjami w różnym wieku.

Powyższe zmiany znalazły odzwierciedlenie w plastycznej adaptacji aparatu fotosyntetycznego. Porównanie znormalizowanych krzywych fluorescencji na odcinku O-J wykazało, obecność w młodych populacjach prążków J i K, wskazujących na ograniczenie transportu elektronów z plastochinonu A do B (Q_A do Q_B), jak również na prawdopodobną dysfunkcję systemu rozkładającego wodę (OEC).

Wykazałem także zmianę organizacji centrów reakcji (RC, prążek L), które z 'bardziej rozdzielonych' w młodych populacjach w stosunku do populacji starych. Interesujące jest również, że wielkość anten PSII (ABS/RC), ich zagęszczenie (RC/CS_0) oraz parametry związane z przepływem elektronów przez RC były większe w populacjach młodych. Z kolei porównanie krzywych fluorescencji na odcinku J-P, wskazuje na wzrost transportu elektronów z Q_A poza PSI z wiekiem muraw. Wartości maksymalnej wydajności pierwotnych reakcji ϕ_{PO} ($=F_V/F_M$), wszystkich populacji była niższa (0.73 - 0.78) od podawanej dla roślin w optymalnych warunkach (0.83), wskazując, że wszystkie populacje kłosownicy rosły w warunkach stresu środowiskowego, jakkolwiek jego wpływ był większy w początkowych etapach kolonizacji.

Uzyskane wyniki wskazują, że młode murawy były zdominowane przez genotypy aklimatyzowane do warunków silnego stresu (-ów) środowiskowych w początkowych etapach ekspansji poprzez podwyższenie 'tempa fotosyntezy', które pozwala na optymalne

wychwytywanie kwantów światła w krótkich okresach czasu, gdy temperatura i natężenie PAR nie są zbyt wysokie. Stare murawy były zdominowane przez genotypy, aklimatyzowane do warunków ocieniania i konkurencji, panujących w zwartych łąkach kłosownicy, przez obniżenie wydajności fazy świetlnej fotosyntezy.

Znaczenie badań dla ochrony różnorodności florystycznej muraw kserotermicznych oraz ograniczenia ekspansji *Brachypodium pinnatum*

Zagadnienia ekspansji rodzimych gatunków roślin są istotne również z praktycznego punktu widzenia, gdyż ich udział w płatach zbiorowisk roślinnych, zwłaszcza półnaturalnych, gwałtownie się zwiększa. Gatunki te, ze względu na silne zdolności konkurencyjne oraz efektywne mechanizmy dyspersji, zagrażają nie tylko różnorodności biologicznej zbiorowisk półnaturalnych jako takiej, ale również egzystencji populacji wielu rzadkich gatunków roślin i zwierząt. W publikacji P5, podjąłem próbę określenia wpływu różnego rodzaju zabiegów ochrony aktywnej na możliwość kontroli ekspansji tego gatunku. Do badań wybrałem 90 poletek o powierzchni 1m². 30 poletek pozostawiono jako kontrolę bez zabiegów, 30 dalszych wykaszano mechanicznie późną jesienią, zaś na pozostałych - po wycięciu krzewów usuwano odrośla. Skoszoną biomasę usuwano poza obręb powierzchni. Koszenie wykonywano przy użyciu mechanicznej kosi spalinowej z metalowym ostrzem trójgraniastym, w przypadku koszenia odrośli krzewów oraz metalowej tarczy – roślin zielnych. Podczas koszenia dochodziło do uszkodzenia darni murawy i tworzenia niewielkich luk. W ten sposób powstawały 'bezpieczne miejsca do kiełkowania' umożliwiające kiełkowanie nasion (Falińska 1997; Brzosko *et al.* 2009; Harper 2010). Ten typ użytkowania pozwolił w ciągu 4 lat (1997-2000) na obniżenie procentowego udziału kłosownicy pierzastej na poletku koszonym z 68% do 37%. Na poletku kontrolnym procentowy udział oraz frekwencja kłosownicy nieznacznie wzrosły (z 3 do 5 %, oraz z 20 do 27 poletek). Największy wzrost procentowego udziału zanotowano na powierzchni na której usuwano drzewa i krzewy (z 20 do 65%). Badania te są kontynuowane – po 15 latach na poletku koszonym udział kłosownicy spadł do 11%.

Uzyskane wyniki wskazują, że mechaniczne koszenie murawy z tworzeniem mikro zaburzeń jest bardzo efektywnym zabiegiem ograniczającym ekspansję kłosownicy i może zastępować wypas, w miejscach trudno dostępnych (np. na stromych zboczach, niewielkich powierzchniowo, izolowanych murawach). Metody te są stale rozwijane w oparciu o długotrwałe obserwacje na stałych powierzchniach badawczych w Ojcowskim PN i posłużyły m.in. jako podstawa Operatu

Ochrony Ekosystemów Nieleśnych Ojcowskiego Parku Narodowego (Ostoi Natura 2000 „Dolina Prądnika” na lata 2016-2020).

Wykaz najważniejszych rezultatów badań zawartych w cyklu prac przedstawionych jako osiągnięcie habilitacyjne:

1. Wykazanie, że wysoki udział *Brachypodium pinnatum* (>50-60% pokrycia) wpływa negatywnie na występowanie większości gatunków murawowych.
2. Wykazanie, że gatunek ten, ze względu na niskie tempo dynamiki w początkowych stadiach sukcesji, może być naturalnym składnikiem bogatych florystycznie muraw. Ekspansję tego gatunku zapoczątkowało zaprzestanie tradycyjnego użytkowania muraw oraz porzucanie pól uprawnych.
3. Poznanie wpływu właściwości krajobrazu na kształtowanie różnorodności genetycznej kłosownicy pierzastej. Wykazanie istotnej roli dyspersji nasion i pyłku w procesie długodystansowego rozprzestrzeniania się (*long-distance dispersal*) w krajobrazie rolniczym.
4. Poznanie istotnych z naukowego i praktycznego punktu widzenia aspektów biologii oraz mechanizmów ekspansji kłosownicy pierzastej:
 - uściślenie średniego i maksymalnego rozmiaru klonu *Brachypodium pinnatum* (1.16 m – 4 m),
 - wykazanie istotnej roli reprodukcji generatywnej we wczesnych etapach ekspansji *B. pinnatum*,
 - potwierdzenie istotnej roli architektury klonu w zajmowaniu i wypełnianiu kolonizowanej przestrzeni,
 - wykazanie istnienia silnej konkurencji międzyklonalnej oraz selekcji klonów *Brachypodium pinatum* w późnych etapach ekspansji,
 - wykazanie plastycznej aklimatyzacji aparatu fotosyntetycznego kłosownicy do warunków siedliskowych, zmieniających się w trakcie ekspansji.
5. Opracowanie metod ograniczenia ekspansji *Brachypodium pinnatum*

Cytowana literatura:

Arnaud-Haond S. (2008) Standardizing Methods to Address Clonality in Population Studies (Vol 16, Pg 5115, 2007). *Molecular Ecology* 17:3222.

Austerlitz F., Jung-Muller B., Godelle B., Gouyon P. (1997) Evolution of coalescence times, genetic

- diversity and structure during colonization. *Theoretical Population Biology* **51**:148–164.
- Austerlitz F., Smouse P.E. (2001) Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. II. Relation between ϕ (ft), pollen dispersal and interfemale distance. *Genetics* **157**:851–7.
- Avise J.C., Hamrick J.L. (Eds) (1996) *Conservation genetics: case histories from nature*. Chapman & Hall, New York.
- Baba W. (2003) Changes in the structure and floristic composition of the limestone grasslands after cutting trees and shrubs and mowing. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* **72**:61–69.
- Bakker E.G., Montgomery B., Nguyen T., Eide K., Chang J., Mockler T.C., Liston A., Seabloom E.W., Borer E.T. (2009) Strong population structure characterizes weediness gene evolution in the invasive grass species *Brachypodium distachyon*. *Molecular Ecology* **18**:2588–2601.
- Barrett S.C.H. (1996) The reproductive biology and genetics of island plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences* **351**:725–733.
- Barrett S.C.H., Colautti R.I., Eckert C.G. (2008) Plant reproductive systems and evolution during biological invasion. *Molecular Ecology* **17**:373–383.
- Bobbink R., Willems J.H. (1987) Increasing dominance of *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv. in chalk grasslands: a threat to a species-rich ecosystem. *Biol Conserv* **40**:301–314.
- Bobbink R., Willems J.H. (1988) *Effects of management and nutrient availability on vegetation structure of chalk grassland*. Academic Publishing.
- Bossdorf O., Auge H., Lafuma L., Rogers W.E., Siemann E., Prati D. (2005) Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia* **144**:1–11.
- Brzosko E., Wroblewska A., Talalaj I., Adamowski W. (2009) Patterns of Genetic Diversity in *Platanthera bifolia* (Orchidaceae) with Respect to Life History Traits and Recent Range Expansion. *FOLIA GEOBOTANICA* **44**:131–144.
- Colautti R.I., Lau J.A. (2015) Contemporary evolution during invasion: evidence for differentiation, natural selection, and local adaptation. *Molecular Ecology* **24**:1999–2017.
- Le Corre V., Kremer A. (2003) Genetic Variability at Neutral Markers, Quantitative Trait Loci and Trait in a Subdivided Population Under Selection. *Genetics* **164**:1205–1219.
- Crawford K.M., Whitney K.D. (2010) Population genetic diversity influences colonization success. *Molecular Ecology* **19**:1253–1263.
- Cristescu M.E. (2015) Genetic reconstructions of invasion history. *Molecular Ecology* **24**:2212–2225.
- Cruzan M.B. (2001) Population size and fragmentation thresholds for the maintenance of genetic diversity in the herbaceous endemic *Scutellaria montana* (Lamiaceae). *Evolution; International Journal of Organic Evolution* **55**:1569–1580.

