

Agnieszka Kowalkowska

Obszar wiedzy: Nauki Przyrodnicze
Dziedzina: Nauki Biologiczne
Dyscyplina: Biologia

**Analiza kwiatowych struktur wydzielniczych u wybranych
przedstawicieli *Bulbophyllum* Lindl. i *Epipactis* Zinn.
(*Orchidaceae*)**

AUTOREFERAT

Katedra Cytologii i Embriologii Roślin

Gdańsk 2018

Spis treści

1. Imię i nazwisko	2
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe	2
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	2
4. Wskazanie osiągnięcia	2
A. Tytuł osiągnięcia naukowego	2
B. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego	3
C. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.....	4
Wprowadzenie.....	4
Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników	5
Kierunki i perspektywy dalszych badań	9
Literatura	10
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych	12
5.1. Osiągnięcia w pracy badawczej przed uzyskaniem stopnia doktora	12
A. Badania taksonomiczne <i>Orchidaceae</i>	12
B. Analiza mikromorfologiczna w badaniach taksonomicznych.....	12
5.2. Osiągnięcia w pracy badawczej po uzyskaniu stopnia doktora	12
A. Analiza tkanki wydzielniczej u wybranych gatunków	13
B. Analiza cech anatomicznych gynostemium	15
C. Analiza cytologiczna i mikromorfologiczna w odniesieniu do badań taksonomicznych i/lub filogenetycznych u <i>Orchidaceae</i>	16
5.3. Pozostałe przejawy aktywności naukowej	16

1. Imię i nazwisko

Agnieszka Kamila Kowalkowska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

- ✓ 29.06.2009 – **doktor nauk biologicznych w zakresie biologii**, Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Dyplom nr 3128
Tytuł rozprawy doktorskiej, wykonanej w Katedrze Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody:
„Analiza porównawcza struktur kwiatowych zwabiających owady u wybranych gatunków *Bulbophyllinae* i *Pleurothallidinae* (*Orchidaceae*)”
Promotor: prof. dr hab. Dariusz L. Szlachetko

 - ✓ 23.06.2003 – **magister biologii w zakresie biologii środowiskowej** (z wyróżnieniem), Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii, Dyplom nr 5235/B/2003
Tytuł pracy magisterskiej, wykonanej w Katedrze Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody:
„Analiza taksonomiczna, geograficzna i ekologiczna storczyków Gwinei”
Promotor: prof. dr hab. Dariusz L. Szlachetko
-

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- ✓ od 2011-02 - adiunkt naukowo-dydaktyczny,
Katedra Cytologii i Embriologii Roślin,
 - ✓ od 2010-04-01 do 2011-01-31 - starszy specjalista naukowo techniczny,
Katedra Cytologii i Embriologii Roślin,
 - ✓ od 2009-10-15 do 2010-03-31 - specjalista naukowo techniczny,
Katedra Cytologii i Embriologii Roślin,
 - ✓ od 2008-09-01 do 2009-10-14 - starszy referent techniczny,
Katedra Cytologii i Embriologii Roślin,
 - ✓ od 2007-01-01 do 2008-08-31 - starszy referent techniczny,
Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody,
 - ✓ od 2006-09-01 do 2006-12-31 - starszy technik,
Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody.
-

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. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

A. Tytuł osiągnięcia naukowego

Analiza kwiatowych struktur wydzielniczych u wybranych przedstawicieli *Bulbophyllum* Lindl. i *Epipactis* Zinn. (*Orchidaceae*)

B. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

Publikacje dotyczące rodzaju *Bulbophyllum* Lindl.:

1. **Kowalkowska AK**, Kozieradzka-Kiszkurno M, Turzyński S (2015) Morphological, histological and ultrastructural features of osmophores and nectary of *Bulbophyllum wendlandianum* (Kraenzl.) Dammer (*B.* section *Cirrhopetalum* Lindl., *Bulbophyllinae* Schltr., *Orchidaceae*). *Plant Systematics and Evolution* 301(2): 609-622.

IF = 1,361; średni 5-letni IF = 1,291; MNiSW = 20 pkt.

Mój udział procentowy szacuję na 70%.

2. **Kowalkowska AK**, Turzyński S, Kozieradzka-Kiszkurno M, Wiśniewska N (2017) Floral structure of two species of *Bulbophyllum* section *Cirrhopetalum* Lindl.: *B. weberi* Ames and *B. cumingii* (Lindl.) Rchb.f. (*Bulbophyllinae* Schltr., *Orchidaceae*). *Protoplasma* 254(3): 1431-1449.

IF = 2,457; średni 5-letni IF = 2,658; MNiSW = 30 pkt.

Mój udział procentowy szacuję na 70%.

3. Wiśniewska N, **Kowalkowska AK**, Kozieradzka-Kiszkurno M, Krawczyńska AT, Bohdanowicz J (2018) Floral features of two species of *Bulbophyllum* section *Lepidorhiza* Schltr.: *B. levanae* Ames and *B. nymphopolitanum* Kraenzl. (*Bulbophyllinae* Schltr., *Orchidaceae*). *Protoplasma* 255(2): 485-499.

IF = 2,457; średni 5-letni IF = 2,658; MNiSW = 30 pkt.

Mój udział procentowy szacuję na 35%.

Publikacja dotycząca rodzaju *Epipactis* Zinn.:

4. **Kowalkowska AK**, Pawłowicz M, Guzanek P, Krawczyńska AT (2018) Floral nectary and osmophore of *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (*Orchidaceae*). *Protoplasma* DOI: <https://doi.org/10.1007/s00709-018-1274-5>

IF = 2,457; średni 5-letni IF = 2,658; MNiSW = 30 pkt.

Mój udział procentowy szacuję na 55%.

Osiągnięcie naukowe, stanowiące podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, przedstawiłam w 4 monotematycznych publikacjach naukowych opublikowanych w latach 2015-2018 w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports. Łączny IF = **8,732** oraz sumaryczna liczba punktów MNiSW = **110**. W trzech publikacjach jestem pierwszym autorem, w jednej - drugim, we wszystkich pracach - autorem korespondencyjnym.

W autoreferacie prace wchodzące w skład przedstawionego osiągnięcia są przywoływane jako [poz. 1-4].

C. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wprowadzenie

W kwiatach Orchidaceae na skutek presji owadów zapylających wykształciły się różnorodne struktury i mechanizmy zapylania. Podejmowana problematyka badawcza dotyczy struktur wydzielniczych na płatkach kwiatów u wybranych gatunków *Bulbophyllum* Lindl. - zapylanych głównie przez *Diptera* (Christenseen 1994) i *Epipactis* Zinn. - zapylanych głównie przez *Diptera* i *Hymenoptera* (Jakubska-Busse i Kadej 2011). W kwiatach sapromiofilnych, zapylanych przez muchówki, żółtych do brązowo-purpurowych, głównym atraktantem jest zapach (van der Pijl i Dodson 1969; Jones i Gray 1976; van der Cingel 1995), często podobny do rozkładających się związków białkowych, głównie amin, amoniaku i indoli (Proctor i in. 1996). Kwiaty sapromiofilne wytwarzają niewiele nektaru lub wcale (Jürgens i in. 2006; van der Niet i in. 2011). Natomiast kwiaty zapylane przez *Hymenoptera* charakteryzują się jasną barwą, przyjemnym dla ludzi zapachem i nektarem wydzielanym na powierzchni warzki (van der Pijl i Dodson 1969).

Substancje zapachowe są produkowane w gruczołach zapachowych (osmoforach), które mogą morfologicznie wyróżniać się lub nie spośród innych tkanek kwiatów (Stern i in. 1987; Vogel 1990). Osmofory mogą tworzyć struktury zwane „antenami”, które są powiększonymi wierzchołkami petali (dwóch bocznych płatków okółka wewnętrznego okwiatu) i/lub sepali (płatków okółka zewnętrznego okwiatu: grzbietowego i dwóch bocznych), np. u *Bulbophyllum cerambyx* J. J. Sm., *Myoxanthus reymondii* (H. Karst.) Luer, *Restrepia antennifera* Kunth. Mogą być również zlokalizowane w wydłużonych wierzchołkach wszystkich płatków okwiatu (tepali), zwłaszcza sepali, np. u *Dracula* Luer, *Masdevallia* Ruiz & Pav. lub nawet jako gruczoły na zrosniętych sepalach u *Scaphosepalum verrucosum* (Rchb. f.) Pfitzer (= *Scaphosepalum ochthodes* (Rchb. f.) Pfitzer) (van der Cingel 1995). Vogel (1990) opisał dwa heterogeniczne centra zapachowe u *Bulbophyllum ornatissimum*: wydłużone osmofory z zapachem tranu oraz zapach trimetyloaminy wydzielany z powierzchni warzki, co było decydujące, by szczegółowym badaniom poddać każdy z płatków gatunków *Bulbophyllum*. Natomiast kwiaty *Epipactis* wydzielają silne związki aromatyczne, takie jak eugenol i wanilina, które mogą być kluczowe w zwabianiu muchówek (Jakubska i in. 2005; Jakubska-Busse i Kadej 2011). Ze względu na cytotoksyczność, substancje zapachowe są wydzielane okresowo i nie akumulują się na powierzchni osmoforów (Vogel 1990).

Najbardziej powszechnym atraktantem krótkiego dystansu jest **nektar** (van der Pijl i Dodson 1969), gromadzony w kwiatowych lub pozakwiatowych miodnikach (= nektarnikach). Termin „nektarnik” odnosi się do miejsca produkcji i oferowania nektaru, by widoczny był dla zwierząt zapylających, a nie do powstawania czy umiejscowienia w kwiecie (Pacini i in. 2003), gdyż nektarniki znacznie się różnią pod kątem topografii, morfologii, anatomii, ultrastruktury i procesów wydzielniczych (Nepi 2017).

U przedstawicieli omawianych rodzajów *Bulbophyllum* i *Epipactis* opisywano powierzchniowe nektarniki na warżce (van der Pijl i Dodson 1969; Nilsson 1978; Vogel 1990; Borba i Semir 1998). Badania De Pádua Teixeira i in. (2004) zwróciły moją uwagę na cechy warżki: rolę miodnika pełniła tkanka w płytce, podłużnym rowku warżki, a dodatkowo brodawki na łatkach bocznych wykazywały funkcję osmoforową. Chociaż składnikami rozpuszczonymi w nektarze mogą być różne związki: węglowodany, kwasy aminowe, jony, białka, składniki zapachowe (Raguso 2004), enzymy i antyoksydanty zapewniające homeostazę składu nektaru (Carter i Thornburg 2004), a także związki toksyczne odstraszające niechcianych konsumentów (Adler 2001), to badacze zaczęli być ostrożni w nazywaniu nektarem płynu wydzielanego na warżkach *Bulbophyllum*. Wydzielinę warżkową określono jako nektar u *B. epiphytum*, *B. glutinosum*, *B. regnellii*, *B. rothschildianum* (De Pádua Teixeira i in. 2004) i u *Bulbophyllum* z sekcji *Didactyle* (Nunes i in. 2014), jako bogate w lipidy wydzieliny u afrykańskich *Bulbophyllum* (Stpiczyńska i in. 2015), jako śluz bogaty w białka u *Bulbophyllum* w sekcji *Racemosae* (Davies i Stpiczyńska 2014; Stpiczyńska i Davies 2016).

Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników

Celem podjętych badań była:

- a) identyfikacja tkanki wydzielniczej w kwiatach** u wybranych gatunków z klimatu tropikalnego: azjatyckich gatunków z rodzaju *Bulbophyllum* Lindl.: *Bulbophyllum wendlandianum* (Kraenzl.) Dammer [**poz. 1**], *B. cumingii* (Lindl.) Rchb. f. i *B. weberi* Ames [**poz. 2**], *B. levanae* Ames i *B. nymphopolitanum* Kraenzl. [**poz. 3**] oraz z klimatu umiarkowanego z rodzaju *Epipactis* Zinn.: *Epipactis helleborine* (L.) Crantz [**poz. 4**], **charakteryzowanych w literaturze jako posiadające powierzchniowe nektarniki,**
- b) analiza i opisanie kwiatowych struktur wydzielniczych** u gatunków *Bulbophyllum* (zapyłanych głównie przez muchówki *Diptera*) i *Epipactis* (zapyłanych głównie przez *Diptera* i *Hymenoptera*).

Do opisanie cech tkanki wydzielniczej użyto metod makro- i mikromorfologicznych, histochemicznych oraz ultrastrukturalnych.

U *B. wendlandianum* [**poz. 1**] nektarnik był zlokalizowany w centralnym rowku na powierzchni wewnętrznej (doosiowej) warżki i składał się z epidermy wydzielniczej i kilku warstw subepidermalnych. Gęsta cytoplazma zawierała liczne mitochondria, rozbudowane retikulum endoplazmatyczne (ER), w pełni rozwinięte diktiosomy, rybosomy, ciała lipidowe oraz ciała wielopęcherzykowe i figury mielinopodobne. W wakuoli obecne były materiały tanino-podobne. Duża liczba mitochondriów jest odzwierciedleniem wysokiej aktywności metabolicznej komórek, co było wcześniej opisane zarówno w tkankach nektarowych, jak i osmoforowych (Pridgeon i Stern 1983; Stpiczyńska i in. 2005b). Obecność licznych profili ER i diktiosomów jest związana z wydzielaniem nektaru (Figueiredo i Pais 1992; Stpiczyńska i in. 2005a). Ponadto często występowały ciała osmoofilne (prawdopodobnie lipidowe) (Pais i Figueiredo 1994; Stpiczyńska 1997; Stpiczyńska i in. 2004). Taniny pełnią rolę ochronną przed patogenami, roślinożercami i promieniowaniem UV

(Brillouet i in. 2013 oraz literatura tam cytowana). Wykazano, że cała powierzchnia wewnętrzna warzki posiada cechy wydzielnicze, ale nie obserwowano histologicznych czy ultrastrukturalnych różnic między brodawkami na łatkach bocznych warzki a rowkiem warzki, jak u neotropikalnych *Bulbophyllum* (De Pádua Teixeira i in. 2004). Aktywność osmoforową u *B. wendlandianum* wykryto na rozgałęzionych, wielokomórkowych wyrostkach grzbietowego sepalum i petalach. Badania ultrastrukturalne wyrostków ujawniły **obrzemienia kutykuli właściwej**, co było pierwszą taką obserwacją dla gatunków z rodzaju *Bulbophyllum*. Dodatkowo obserwowano kutykulę siatkowatą, u której na powierzchni komórek, w miejscach zakończenia mikrokanałów, odnotowano pozostałości wydzielin, co potwierdza ich rolę transportową. Obecność kutykuli z mikrokanałami, biorącymi udział w transporcie składników zapachowych, została opisana m.in. u *Anacamptis pyramidalis* f. *fumeauxiana* (Kowalkowska i in. 2012) czy u afrykańskich *Bulbophyllum* (Stpiczyńska i in. 2015).

W kwiatach *Bulbophyllum cumingii* i *B. weberi* [poz. 2] aktywność wydzielniczą wykazano na grzbietowych sepalach obu gatunków i petalach *B. weberi* (prawdopodobne osmofony) oraz na wewnętrznej (doosiowej) powierzchni warzki obu gatunków (prawdopodobne nektarniki). Petale *B. cumingii* były raczej nieaktywne w procesie wydzielniczym. W komórkach wydzielniczych gęsta cytoplazma zawierała dużą liczbę organelli: mitochondria, ER, diktiosomy, ciała lipidowe, co wskazuje na wysoką aktywność metaboliczną w tkankach wydzielniczych (Pridgeon i Stern 1983; Figueiredo i Pais 1992; Stpiczyńska 1997; Stpiczyńska i in. 2005a). Warzka u obu gatunków była łukowato wygięta, z centralnym, podłużnym rowkiem, otoczonym przez dwa grzbiety i wzniesione łatki boczne. Tkanka wydzielnicza, podobnie jak u *B. wendlandianum* [poz. 1], składała się z jednej warstwy epidemy i kilku warstw subepidermalnych. Mimo podobieństw makro- i mikromorfologicznych *B. cumingii* i *B. weberi*, tkanka wydzielnicza w rowku warzki różniła się histochemicznie i ultrastrukturalnie. U *B. weberi* komórki epidemy zawierały w cytoplazmie: lipidy, białka, ziarna skrobi, dihydroksyfenole w wakuolach i **kwasy pektynowe/śluz** na powierzchni warzki, podczas gdy u *B. cumingii* wykryto niewiele lipidów, ziaren skrobi, brak białek, dihydroksyfenoli i śluzu. W badaniach ultrastrukturalnych zaobserwowano materiał wydzielany na powierzchni warzki *B. weberi* oraz pęcherzyki wbudowujące się w plazmalemmę, a u drugiego gatunku wykazano wrosty ścian komórkowych, mikrokanały i pęcherzyki. Obserwacje **wrostów na wewnętrznych tangencjalnych ścianach komórkowych epidemy** w warzce u *B. cumingii* i petalach *B. weberi* są pierwszym doniesieniem u *Bulbophyllum*. Wypukłości ściany komórkowej mogą funkcjonować jako komórki transferowe – wysoko wyspecjalizowane komórki, w których zachodzi aktywny transport składników przez plazmalemmę (Gunning i Pate 1974). U obu gatunków obecność wrostów i kutykuli z mikrokanałami ułatwiała wydzielanie i resorpcję nektaru, co opisano wcześniej u *Fritillaria* (Stpiczyńska i in. 2012). W warzce *B. cumingii* wrosty mogą potwierdzać funkcję nektarnika, natomiast w petalach drugiego gatunku raczej wskazują na funkcję osmoforową (bez akumulacji wydzielin na powierzchni). Wrosty ściany komórkowej występowały także u *Epipactis atropurpurea* (nektar bogaty w heksozę), podczas gdy u *Limodorum abortivum* były nieobecne (nektar bogaty w sacharozę) (Pais

i Figueiredo 1994). W odniesieniu do tych obserwacji, nektar bogaty w sacharozę mógł być obecny na powierzchni warzki *B. weberi*, a w heksozę - u *B. cumingii*.

U gatunków *Bulbophyllum levanae* i *B. nymphopolitanum* [poz. 3] odnotowano tkankę wydzielniczą w rowku warzki oraz w wydłużonych wierzchołkach sepali i petali (prawdopodobne osmofory). Ponadto, na bocznych petalich i bocznych sepalach *B. nymphopolitanum* obserwowano zmodyfikowane aparaty szparkowe z widocznymi wydzielanymi substancjami, które również mogą funkcjonować jako osmofory. Najbardziej charakterystyczną cechą w epidermie warzłek było występowanie **przestrzeni peryplazmatycznej**. Jednak u *B. levanae* przestrzeń była trzykrotnie większa niż u *B. nymphopolitnum*. Cecha ta była prawdopodobnie związana z wydzielaniem merokrynowym, kiedy komórka po wydzieleniu pozostaje żywa i kontynuuje swoją aktywność wydzielniczą. Ponadto syntetyzowane substancje mogły być transportowane z udziałem pęcherzyków (wydzielanie granulokrynowe) do przestrzeni peryplazmatycznych, a następnie na powierzchnię komórki (Fahn 1979; Pacini i Nepi 2007; Paiva 2016). Proces ten powszechnie występuje w nektarnikach czy zagłębieniach wydzielających gumy, oleje i żywice. Materiały akumulowane w przestrzeni peryplazmatycznej redukują powierzchnię zajmowaną przez protoplast stopniowo zwiększając ciśnienie, przez co cytoplazma staje się gęstsza i bardziej zwarta (Paiva 2016). W warzce *B. levanae* zarówno przestrzeń peryplazmatyczna, jak i mikrokanaly występują równocześnie, co nie było wcześniej odnotowane w literaturze. Według Paiva (2016) wydzielanie przez pory lub hydrofilne kanały występuje w komórkach nierozwijających przestrzeni peryplazmatycznej.

Kolejna praca dotyczy tkanki wydzielniczej *Epipactis helleborine* [poz. 4]. Warzka jest zbudowana z dwóch połączonych części: nasadowej – hypochilu i wierzchołkowej – epichilu z guzkami. W przekroju poprzecznym hypochil był zbudowany z jednej warstwy epidermy, kilku warstw subepidermalnych i parenchymy, natomiast w guzkach epichilu parenchyma zawierała przestrzenie międzykomórkowe i liczne idioblasty. Cały hypochil i guzki epichilu wydzielają nektar. Zapach pochodzi prawdopodobnie ze składników aromatycznych nektaru oraz jest wydzielany przez tkanki epichilu i wierzchołki tepali (osmofory). Pofałdowaną powierzchnię hypochilu z odstającą kutykulą wykazano już w stadium pąka (o długości ok. 8 mm), natomiast na guzkach epichilu widoczne było niewielkie odseparowanie kutykuli od ściany komórkowej. Natomiast u *Epipactis palustris* (L.) Crantz (Kowalkowska i in. 2015) nektarnik był obecny na przesmyku wewnętrznej powierzchni hypochilu i na zgrubieniu epichilu, gdzie zaobserwowano odstającą kutykulę. Obserwacje odstającej kutykuli, zarówno u *E. helleborine*, jak i *E. palustris* (Kowalkowska i in. 2015) wskazywały na akumulację nektaru pod kutykulą. Nektar może następnie być uwalniany na zewnątrz komórki poprzez rozerwanie kutykuli pod wpływem narastającego ciśnienia (Curry i in. 1991). W przekrojach poprzecznych pąków *E. helleborine* obserwowano znaczną wydzielinę na hypochilu, a niewielką jej ilość na guzkach epichilu. Ponadto, porównanie zapylonych i niezapylonych kwiatów od stadium pąka do szesnastego dnia kwitnienia *E. helleborine* [poz. 4] wykazało, że zapylone kwiaty szybko wysychały, a w kwiatkach niezapylonych **heterogeniczna wydzielina z frakcją fenolową** (nieobserwowaną wcześniej) pojawiła się przy końcu antezi. Może to intensyfikować percepcję zapachu przez potencjalne owady zapylające. Na podstawie tych

obserwacji, do proponowanego hipotetycznego schematu wpływu chemicznych składników na zapylające i wizytujące owady u *E. helleborine* (Jakubska i in. 2005), zapropozowano dodanie trzeciego stadium: w ostatnim dniu antezi niezapylonych kwiatów – maksymalne wydzielanie („rozładunek”) nektaru z komórek (zwłaszcza na guzkach) i intensyfikacja zapachu przez pojawienie się materiału fenolowego w wydzielinie. Odnotowano także **obecność przestrzeni peryplazmatycznej** w trzecim dniu antezi w kwiatach *E. helleborine*, wcześniej odnotowane u *B. levanae* i *B. nymphopolitanum* [poz. 3]. Kutykularne kanały (mikrokanały) występowały w komórkach hypochilu i guzkach epichilu. Mikrokanały i przestrzeń peryplazmatyczna równocześnie występowały w komórkach u *E. helleborine*, jak u wcześniej opisanego *B. levanae* [poz. 3].

Oprócz wyżej wymienionych cech charakterystycznych dla każdego z gatunków, wyróżniono cechy tkanki wydzielniczej wspólne dla wszystkich gatunków. **Plastydy z plastoglobulami** opisano w wyrostkach grzbietowego sepalum i petali *B. wendlandianum* [poz. 1], w grzbietowym sepalum *B. cumingii*, w petalich i warżce *B. weberi* [poz. 2], w warżce *B. levanae* i *B. nymphopolitanum* oraz w petalich *B. levanae* [poz. 3], w warżce *E. helleborine* [poz. 4]. Plastydy z plastoglobulami obserwowano zarówno w komórkach nektarników, jak i osmoforów (Figueiredo i Pais 1992; Stpiczyńska 1997; Stpiczyńska i in. 2005a). W barwieniu na obecność dihydroksyfenoli (FeCl_3) wykazano, że dihydroksyfenolowe globule były obecne w cytoplazmie tepali u tych gatunków, ale nie w wakuolach. Natomiast plastydy z licznymi plastoglobulami były widoczne w cytoplazmie w badaniach ultrastrukturalnych. Skoro plastoglobule były związane z produkcją zapachu, a składniki fenolowe często występowały w zapachu kwiatów u gatunków sapromiofilnych i były uważane za zwabiające muchówki (Jürgens i in. 2006), wnioskowano, że plastoglobule barwią się w FeCl_3 . System wzajemnie powiązanych błon: wewnętrzne błony plastydowe, błona zewnętrzna plastydu i ER położone blisko siebie pozwalały na transport produkowanych w plastoglobulach składników zapachu przez ER do plazmalemy lub niezależne przemieszczanie się jako lipofilne lub osmofilne krople w cytoplazmie (Pridgeon i Stern 1985; Stern i in. 1987; Pais i Figueiredo 1994; Stpiczyńska 1997; Kowalkowska i in. 2012). Wydzielina była prawdopodobnie transportowana wewnątrz pęcherzyków (pochodzących z ER lub diktiosomów), które wbudowywały się do plazmalemy. Na podstawie obserwacji nieregularnej plazmalemy i pęcherzyków wbudowujących się w błonę lub występujących w pobliżu [poz. 1-4] wnioskowano o transporcie materiału na powierzchnię komórki w drodze **wydzielania granulokrynowego**, co opisano m.in. u *Gymnadenia conopsea* (Stpiczyńska i Matusiewicz 2001), *Platanthera chlorantha* (Stpiczyńska i in. 2005b), *Anacamptis pyramidalis* (Kowalkowska i in. 2012) i *E. palustris* (Kowalkowska i in. 2015).

Ziarna skrobi w plastydach, będące źródłem energii dla produkcji zapachu i nektaru (Vogel 1990; Nepi 2007; Pacini i Nepi 2007), obserwowano w antezie u *B. cumingii*, *B. weberi* oraz *B. levanae* [poz. 2, 3]. W kwiatach *B. wendlandianum* [poz. 1] i *B. nymphopolitanum* [poz. 3] skrobia mogła zostać zhydrolizowana podczas antezi, co wymaga dalszych badań. Według Nepi (2007) źródło i ilość skrobi w tkance wydzielniczej są skorelowane ze sposobem wydzielania nektaru. Gatunki z wydzielaniem ekrynowym

zawierają bardzo dużo skrobi, a te z niewielką ilością skrobi lub jej brakiem mogą także odzwierciedlać wydzielanie granulokrynowe. Dodatkowo, w stadium pąka *E. helleborine* [poz. 4], zużywanie skrobi rozpoczynało się od komórek epidermy. Polimorficzne kształty plastydów obserwowano także u *E. palustris* (Kowalkowska i in. 2015), co jest związane z redukcją skrobi (Stpiczyńska i in. 2005a).

Liczne **idioblasty z kryształami szczawianu wapnia w formie rafidów** obserwowano w tepalach u *Bulbophyllum* [poz. 1-3], natomiast ich mniejszą liczbę u *Epipactis* [poz. 4]. W grzbietowym sepalum i petalach u *B. wendlandianum* [poz. 1], *B. cumingii* i *B. weberi* [poz. 2] rozwój idioblastów powodował wzrost objętości komórek, co było widoczne jako charakterystyczne grupy wyniesionych komórek na powierzchni płatków. Oprócz wyeliminowania dodatkowego wapnia z cytozolu (Paiva i Machado 2008), idioblasty odbijają światło i kierują uwagę owadów do centrum kwiatów (van der Cingel 1995; Franceschi 2001). W warżkach idioblasty obserwowano najczęściej pod jednowarstwową epidermą u *Bulbophyllum* lub w parenchymie guzków epichilu u *Epipactis*, co także chroni kwiat przed roślinożercami (Prychid i Rudall 1999).

Za najważniejsze osiągnięcia naukowe zawarte w cyklu publikacji przedstawionych w przewodzie habilitacyjnym uważam:

Po raz pierwszy opisanie dla gatunków *Bulbophyllum*:

- obrzmień kutykuli na wyrostkach grzbietowego sepalum i petali u *B. wendlandianum*,
- wrostów ścian komórkowych w warżce *B. cumingii* i petalach *B. weberi*,
- przestrzeni peryplazmatycznych w warżce *B. levanae* i *B. nymphopolitanum*,
- równoczesne występowanie przestrzeni peryplazmatycznych i mikrokanałów w epidermie warżki *B. levanae*.

Po raz pierwszy opisanie dla gatunku *Epipactis*:

- heterogeniczej wydzieliny z dodatkową frakcją fenolową w ostatnim stadium antezy kwiatów niezapylnych u *E. helleborine*,
- równoczesnego występowania przestrzeni peryplazmatycznej i mikrokanałów u *E. helleborine*, podobnie jak u *B. levanae*.

Kierunki i perspektywy dalszych badań

Odnotowanie różnych struktur w tkance wydzielniczej po raz pierwszy zachęca do dalszych badań kwiatów *Bulbophyllum* i *Epipactis*. Badania te są wkładem w rozumienie biologii zapylania tych gatunków i planowania ich dalszej ochrony gatunkowej. Badania nad gatunkami sapromiofilnymi *Bulbophyllum* oraz nad autogamią u *Epipactis* są kontynuowane w ramach dwóch rozpraw doktorskich, w których jestem promotorem pomocniczym (mgr Natalia Wiśniewska, mgr Patrycja Guzanek).

Literatura

- Adler LS (2001) The ecological significance of toxic nectar. *Oikos* 91:409-420
- Borba EL, Semir J (1998) Wind-assisted fly pollination in three *Bulbophyllum* (*Orchidaceae*) species occurring in the Brazilian campos rupestres. *Lindleyana* 13: 203-218
- Brillouet J-M, Romieu C, Schoefs B, Solymosi K, Cheynier V, Fulcrand H, Verdeil J-L, Conéjéro G (2013) The tannosome is an organelle forming condensed tannins in the chlorophyllous organs of *Tracheophyta*. *Ann Bot.* 112(6): 1003-1014.
- Carter C, Thornburg RW (2004) Is the nectar redox cycle a floral defense against microbial attack? *Trends Plant Sci* 9: 320-324
- Christensen DE (1994) Fly pollination in the *Orchidaceae*. W: J Arditti (red.) *Orchid biology: Reviews and Perspectives VI*: 415-454. New York: John Wiley and Sons
- Curry KJ, McDowell LM, Judd WS, Stern WL (1991) Osmophores, floral features, and systematics of *Stanhopea* (*Orchidaceae*). *Am J Bot* 78: 610-623
- Davies KL, Stpiczyńska M (2014) Labellar anatomy and secretion in *Bulbophyllum* Thouars (*Orchidaceae: Bulbophyllinae*) sect. *Racemosae* Benth. & Hook. F. *Ann Bot* 114(5): 889-911
- De Pádua Teixeira S, Borba EL, Semir J (2004) Lip anatomy and its implications for the pollination mechanisms of *Bulbophyllum* species (*Orchidaceae*). *Ann Bot* 93: 499-505
- Fahn A (1979) Ultrastructure of nectaries in relation to nectar secretion. *Am J Bot.* 66: 977
- Figueiredo ACS, Pais MS (1992) Ultrastructural aspects of the nectary spur of *Limodorum abortivum* (L.) Sw. (*Orchidaceae*). *Ann Bot* 70: 325-331
- Franceschi VR (2001) Calcium oxalate in plants. *Trends Plant Sci* 6: 331-331
- Gunning BES, Pate JS (1974) Transfer cells. In: Robards AW (ed) *Dynamic aspects of plant ultrastructure*. McGraw-Hill, London, pp. 441-480
- Jakubská A, Przado D, Steininger M, Anioł-Kwiatkowska J, Kadej M (2005) Why does pollinators became „sluggish”? Nectar chemical constituents from *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (*Orchidaceae*). *Appl Ecol Environ Res* 3(2): 29-38
- Jakubská-Busse A, Kadej M (2011) The pollination of *Epipactis* Zinn., 1757 (*Orchidaceae*) species in Central Europe - the significance of chemical attractants, floral morphology and concomitant insects. *Acta Soc Bot Pol* 80: 49-57
- Jones DL, Gray B (1976) The pollination of *Bulbophyllum longiflorum* Thouars. *Amer Orchid Soc Bull* 45: 15-17
- Jürgens A, Dötterl S, Meve U (2006) The chemical nature of fetid floral odours in stapeliads (*Apocynaceae-Asclepiadoideae-Ceropegieae*). *New Phytol* 172: 452-468
- Kowalkowska AK, Margońska HB, Kozieradzka-Kiszkurno M, Bohdanowicz J (2012) Studies on the ultrastructure of a three spurred *fumeauxiana* form of *Anacamptis pyramidalis*. *Plant Syst Evol* 298: 1025-1035
- Kowalkowska AK, Kostelecka J, Bohdanowicz J, Kapusta M, Rojek J (2015) Studies on floral nectary, tepals' structure and gynostemium morphology of *Epipactis palustris* (L.) Crantz (*Orchidaceae*). *Protoplasma* 252(1): 321-333.
- Nepi M (2007) Nectary structure and ultrastructure. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E (eds) *Nectaries and nectar*. Springer, Rotterdam, pp 129-166.
- Nilsson LA (1978) Pollination ecology of *Epipactis palustris* (*Orchidaceae*). *Bot Notiser* 131:355-368
- Nunes ELP, Smidt EC, Stützel T, Coan AI (2014) What do floral anatomy and micromorphology tell us about Neotropical *Bulbophyllum* section *Didactyle* (*Orchidaceae: Bulbophyllinae*)? *Bot J Linn Soc* 175: 438-452

- Pacini E, Nepi M, Vesprini J (2003) Nectar biodiversity: a short review. *Plant Syst Evol* 238: 7-21
- Pacini E, Nepi M (2007) Nectar production and presentation. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E (eds) *Nectaries and nectar*. Springer, Rotterdam, pp 167-214
- Pais MS, Figueiredo ACS (1994) Floral nectaries from *Limodorum abortivum* (L.) Sw. and *Epipactis atropurpurea* Rafin (*Orchidaceae*): ultrastructural changes in plastids during the secretory process. *Apidologie* 25: 615-626
- Paiva EAS (2016) How do secretory products cross the plant cell wall to be released? A new hypothesis involving cyclic mechanical actions of the protoplast. *Ann Bot* 117: 533-540
- Paiva EAS, Machado SR (2008) The floral nectary of *Hymenaea stigonocarpa* (*Fabaceae*, *Caesalpinioideae*): structural aspects during floral development. *Ann Bot* 101(1):125-133
- Pridgeon AM, Stern WL (1983) Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (*Orchidaceae*). *Am J Bot* 70: 1233-1243
- Pridgeon AM, Stern WL (1985) Osmophores of *Scaphosepalum* (*Orchidaceae*). *Bot Gaz* 146: 115-123
- Proctor M, Yeo P, Lack A (1996) *The natural history of pollination*. Harper Collins Publishers, London
- Prychid CJ, Rudall PJ (1999) Calcium oxalate crystals in monocotyledons: a review of their structure and systematics. *Ann Bot* 84: 725-739
- Raguso RA (2004) Flowers as sensory billboards: progress towards an integrated understanding of floral advertisement. *Curr Opin Plant Biol* 7: 434-440
- Stern WL, Curry KJ, Pridgeon AM (1987) Osmophores of *Stanhopea* (*Orchidaceae*). *Am J Bot* 74: 1323-1331
- Stpiczyńska M (1997) The structure of nectary of *Platanthera bifolia* L. (*Orchidaceae*). *Acta Soc Bot Pol* 62: 5-9
- Stpiczyńska M, Matusiewicz J (2001) Anatomy and ultrastructure of spur nectary of *Gymnadenia conopsea* (L.) *Orchidaceae*. *Acta Soc Bot Pol* 70: 267-272
- Stpiczyńska M, Davies KL, Gregg A (2004) Nectary structure and nectar secretion in *Maxillaria coccinea* (Jacq.) L.O. Williams ex Hodge (*Orchidaceae*). *Ann Bot* 93: 87-95
- Stpiczyńska M, Davies KL, Gregg A (2005a) Comparative account of nectary structure in *Hexisea imbricata* (Lindl.) Rchb.f. (*Orchidaceae*). *Ann Bot* 95: 749-756
- Stpiczyńska M, Milanesi C, Faleri C, Cresti M (2005b) Ultrastructure of the nectary spur of *Platanthera chlorantha* (Custer) Rchb. (*Orchidaceae*) during successive stages of nectar secretion. *Acta Biol Crac* 47: 111-119
- Stpiczyńska M, Nepi M, Zych M (2012) Secretion and composition of nectar and the structure of perigonal nectaries in *Fritillaria meleagris*. *Plant Syst Evol* 298: 997-1013
- Stpiczyńska M, Davies KL, Kamińska M (2015) Diverse labellar secretions in African *Bulbophyllum* (*Orchidaceae: Bulbophyllinae*) sections *Ptiloglossum*, *Oreonastes* and *Megaclinium*. *Bot J Linn Soc* 179(2): 266-287
- Stpiczyńska M, Davies KL (2016) Evidence for the dual role of floral secretory cells in *Bulbophyllum*. *Acta Biol Cracov Ser Bot* 58: 57-69
- van der Cingel NA (ed) (1995) *An atlas of Orchid Pollination*. Balkema, Rotterdam
- van der Niet T, Hansen DM, Johnson SD (2011) Carrion mimicry in a South African orchid: flowers attract a narrow subset of the fly assemblage on animal carcasses. *Ann Bot* 107:981-992
- van der Pijl L, Dodson CH (1969) *Orchid flowers: their pollination and evolution*. University of Miami Press, Coral Gables
- Vogel S (1990) The role of scent glands in pollination: on the structure and function of osmophores. Amerind, New Delhi

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Poza omówionymi powyżej czterema publikacjami składającymi się na osiągnięcie naukowe, mój dorobek naukowy składa się z **17 publikacji** o sumarycznym **IF = 19,936 (MNIŚW = 282 pkt.)**. W sześciu z poniższych publikacji jestem pierwszym autorem, w siedmiu autorem korespondencyjnym. Poniżej znajduje się krótkie omówienie tych prac.

5.1. Osiągnięcia w pracy badawczej przed uzyskaniem stopnia doktora

Obszar moich zainteresowań naukowych obejmował następującą tematykę badawczą:

A. Badania taksonomiczne *Orchidaceae*

Podczas pracy magisterskiej oznaczałam gatunki afrykańskie pracując z arkuszami zielnikowymi z Muséum National d'Histoire Naturelle z Paryża oraz wykonując specjalistyczne rysunki, czego głównym efektem jest monografia [**poz. 1, 2**], za którą otrzymałam, wraz z promotorem, Nagrodę Rektora Zespołową I stopnia. Pozostałe prace dotyczą rewizji taksonomicznej [**poz. 3**], opisanie nowych gatunków dla nauki [**poz. 4**] czy form [**poz. 5**].

1. Szlachetko DL, **Kowalkowska AK** (2007) Inventaire preliminaire de la flore d'orchidees de Guinee, Afrique occidentale. *Richardiana* 7(4): 174-184.
2. Szlachetko DL, **Kowalkowska AK** (2007) Contributions to the Orchid Flora of Guinea. *Polish Botanical Studies* 25: 1-259.
3. Margońska HB, **Kowalkowska AK** (2008) Taxonomic revision of *Dienia* (*Malaxidinae*, *Orchidaceae*). *Annales Botanici Fennici* 45: 97-104.
4. Szlachetko DL, **Kowalkowska A** (2008) Two new species of *Disperis* (*Orchidaceae*, *Orchidoideae*) from Central West Africa. *Polish Botanical Journal* 53(1): 1-3.
5. Margońska HB, **Kowalkowska AK** (2008) Une nouvelle forme de *Anacamptis pyramidalis* (*Orchidaceae*). *Richardiana* 8(1): 1-5.

B. Analiza mikromorfologiczna w badaniach taksonomicznych

Celem badań nad wybranymi gatunkami *Malaxidinae* [**poz. 6**] było opisanie cech mikromorfologicznych warzek w sześciu grupach, wyodrębnionych na podstawie prac taksonomicznych. W pracy opisano cechy komórek epidermy: prążkowanie kutykuli, obecność rafidów i pozostałości wydzielin na powierzchni komórek.

6. **Kowalkowska AK**, Margońska HB (2009) Diversity of labellar micromorphological structures in selected species of *Malaxidinae* (*Orchidales*). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 78(2): 141-150.

5.2. Osiągnięcia w pracy badawczej po uzyskaniu stopnia doktora

Obszar moich zainteresowań naukowych obejmuje następującą tematykę badawczą:

A. Analiza tkanki wydzielniczej u wybranych gatunków

Badania nad strukturami kwiatowymi *Orchidaceae* wabiącymi owady rozpoczęłam w ramach pracy doktorskiej pod kierunkiem prof. dr. hab. Dariusza Szlachetko w Katedrze Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego. Ogromne zróżnicowanie struktur kwiatowych przedstawicieli *Bulbophyllinae* i *Pleurothallidinae* na poziomie mikromorfologicznym było przyczynkiem do poszerzenia badań tych struktur o metody histochemiczne i ultrastrukturalne, które opisałyby naturę tkanki wydzielniczej. Jako pracownik Katedry Cytologii i Embriologii Roślin w 2010 roku uzyskałam finansowanie projektu NCN: „Kwiatowe struktury wydzielnicze rodzaju *Cirrhopetalum* Lindl. *sensu latissimo*” (obecnie *Cirrhopetalum* jest uznawane jako sekcja w rodzaju *Bulbophyllum*). Doświadczenie zdobyte dzięki współpracy z prof. dr. hab. Jerzym Bohdanowiczem i dr hab. Małgorzatą Kozieradzką-Kiszkurno pozwoliło mi wypracować własny warsztat badawczy: zapoznać się z technikami anatomicznymi i ultrastrukturalnymi, jak również udoskonalić technikę wykonywania i analizy preparatów mikroskopowych.

[Poz. 7, 8] obejmuje badania warzki i ostrogi u nowej formy *fumeauxiana* *Anacamptis pyramidalis*. W typowych kwiatach *Anacamptis*, ostroga wyrasta u nasady warzki, która jest płatkami wewnętrznego okółka okwiatu. U formy *fumeauxiana* dodatkowe ostrogi wykształciły się na bocznych sepalach – płatkach okółka zewnętrznego. Ostrogi wyrastające na płatkach dwóch okółków nie były wcześniej opisane. Mutacja tego typu została potwierdzona w badaniach molekularnych. Porównanie ostrogi warzki i bocznych sepali ujawniło te same cechy anatomiczne: jednowarstwową epidermę wewnętrzną i zewnętrzną, okrągły kształt komórek epidermy zewnętrznej, grubą pofałdowaną kutykulę. U nasady obu ostróg był obecny niewielki wielokomórkowy wyrostek, silnie barwiący się w reakcji na obecność białek. Pozostałości wydzielin były widoczne na obu powierzchniach ostrogi warzki, która prawdopodobnie funkcjonuje jako osmoфор, natomiast w ostrodze bocznych sepali – na powierzchni wewnętrznej. Badania nad formą *fumeauxiana* poszerzono o badania ultrastrukturalne [poz. 8] i wykazano aktywność wydzielniczą na powierzchni warzki, zgrubieniach, wierzchołkach bocznych sepali, obu powierzchni ostrogi warzki i bocznych sepali. Odnotowano charakterystyczne cechy komórek osmoфорowych: gęstą cytoplazmę z licznymi profilami ER, mitochondriami, plastydami z plastoglobulami i tubularnymi strukturami, dużym jądrem komórkowym, kroplami lipidowymi i pęcherzykami łączącymi się z plazmalemą. Badania te były podstawą do sformułowania wniosku, że ostroga funkcjonuje jako osmoфор. Ponadto, podobieństwo morfologii i anatomii kwiatu, czas kwitnienia i ta sama grupa owadów zapylających *A. pyramidalis*, *A. pyramidalis* f. *fumeauxiana* i *Gymnadenia conopsea* sugeruje możliwy mechanizm oparty na oszustwie pokarmowym – imitację obecności nektaru w ostrogach *Gymnadenia*.

[Poz. 9] obejmuje badania warzki, struktury tepali i morfologii gynostemium u *Epipactis palustris*. Publikacja ta, tylko i wyłącznie z przyczyn formalnych, nie wchodzi w skład osiągnięcia naukowego. Warzka składa się z dwóch połączonych ruchomo części: części nasadowej (hypochilu) z centralnym szerokim przesmykiem i części wierzchołkowej (epichilu) ze zgrubieniem. Cała powierzchnia zgrubienia warzki i wewnętrzna powierzchnia przesmyku ma cechy komórek wydzielniczych. Wydzielina pojawiała się na początku

na zgrubieniu, potem na przesmyku, co może być strategią przedłużenia emisji lotnych substancji i nektaru, i oznacza przedłużenie wabienia owadów zapylających. Tę hipotezę potwierdziły badania w mikroskopie transmisyjnym (TEM). Plastydy odnotowane w zgrubieniu nie zawierały skrobi, podczas gdy komórki przesmyku zawierały częściowo zhydrolizowaną skrobię. Niektóre plastydy w zgrubieniu miały polimorficzne kształty, co było związane z redukcją skrobi. Podczas zmniejszania skrobi w komórkach zgrubienia, rosła liczba plastoglobul w plastydach, jak również ciała lipidowe pojawiły się w cytoplazmie. Natomiast w komórkach przesmyku odnotowano proplastydy z fitoferrytyną. Retikulum endoplazmatyczne w kontakcie z plazmalemą oraz pęcherzyki łączące się z plazmalemą w komórkach wydzielniczych zgrubienia i przesmyku wskazują na granulokrynowy sposób wydzielania. Przekroje poprzeczne przez płatki okółka zewnętrznego ujawniły obecność licznych aparatów szparkowych z dużymi jamami przeddechowymi na silnie pofałdowanej powierzchni zewnętrznej. Ziarna pyłku przylegające do rostellum-viscidium potwierdziły wcześniejsze ekologiczne obserwacje, że rostellum-viscidium nie jest barierą zapobiegającą samozapyleniu.

Kolejna publikacja [poz. 10] dotyczyła badania kwiatów mykoheterotroficznego storczyka *Epipogium aphyllum* nie zawierającego chlorofilu. Przeprowadzone analizy dowiodły, że nektar jest wydzielany na górnej powierzchni brodawek umieszczonych w grupach na wielokomórkowych wyniesieniach, a także wewnątrz ostrogi, zwłaszcza w jej części wierzchołkowej. Wydzielina na brodawkach była obecna przez całą antezę, natomiast w ostrodze pojawiała się okresowo na powierzchni komórek. Wydzielanie nektaru nie było zależne od koloru pędów *E. aphyllum*.

Badania mikromorfologiczne i ultrastrukturalne *Viola odorata* [poz. 11] wykazały obecność nektarników – wyrostków pręcików skierowanych do ostrogi. Ich powierzchnia była pokryta brodawkami. Nektar był wydzielany przez zmodyfikowane aparaty szparkowe, skoncentrowane głównie na szczycie nektarnika.

W publikacji [poz. 12] do badań wybrano 4 gatunki w obrębie kompleksu *Dactylorhiza incarnata/maculata*. Wykazano aktywność wydzielniczą w epidermie przy wejściu do ostrogi (prawdopodobne osmofory) i wewnętrznej epidermie ostróg (prawdopodobnie śladowy nektar) u *Dactylorhiza incarnata*, *D. maculata* subsp. *fuchsii* i *D. majalis* subsp. *majalis*. Wydzielina była nieobecna na brodawkach *D. maculata* subsp. *maculata*, choć obecność słabo rozwiniętych mikrokanalów, pęcherzyków w przestrzeni peryplazmatycznej i plastoglobul w plastydach może być odpowiedzialna za produkcję niewielkiej ilości zapachu lub nektaru. Wyniki badań pokazały, że badane taksony *Dactylorhiza* były dobrze odseparowane różnymi profilami zapachowymi, co może być ważne przy izolacji kwiatów wobec owadów zapylających. Prekusory waniliny, obserwowane głównie u *D. incarnata* i *D. majalis* subsp. *majalis*, są uważani za ważne w zwabianiu potencjalnych owadów zapylających.

7. Kowalkowska AK, Margońska HB, Koziarz-Kiszkurno M (2010) Comparative anatomy of the lip spur and additional lateral sepal spurs in a three-spurred form

- (f. *fumeauxiana*) of *Anacamptis pyramidalis*. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 52(1): 13-18.
8. **Kowalkowska AK**, Margońska HB, Kozieradzka-Kiszkurno M, Bohdanowicz J (2012) Studies on the ultrastructure of a three-spurred *fumeauxiana* form of *Anacamptis pyramidalis*. Plant Systematics and Evolution 298: 1025-1035.
 9. **Kowalkowska AK**, Kostelecka J, Bohdanowicz J, Kapusta M, Rojek J (2015) Studies on floral nectary, tepals' structure and gynostemium morphology of *Epipactis palustris* (L.) Crantz (*Orchidaceae*). Protoplasma 252(1): 321-333.
 10. Święczkowska E, **Kowalkowska AK** (2015) Floral nectary anatomy and ultrastructure in mycoheterotrophic plant – *Epipogium aphyllum* Sw. (*Orchidaceae*). The Scientific World Journal 2015: 1-11.
 11. Wiśniewska N, Bohdanowicz J, **Kowalkowska AK** (2015). Micromorphology and ultrastructure of the floral nectaries of *Viola odorata* L. (*Violaceae*). Modern Phytomorphology 7: 59-66.
 12. Naczka AM, **Kowalkowska AK**, Wiśniewska N, Haliński ŁP, Kapusta M, Czerwicka M (2018) Floral anatomy, ultrastructure and chemical analysis in *Dactylorhiza incarnata/maculata* complex (*Orchidaceae*). Botanical Journal of the Linnean Society 187(3): 512–536, DOI: <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy027>

B. Analiza cech anatomicznych gynostemium

Opublikowane prace dotyczą wykorzystania cech anatomicznych gynostemium w badaniach autogamii u *Dendrobium biflorum* [poz. 13] i *Epipogium aphyllum* [poz. 14]. Po raz pierwszy odnotowano u *D. biflorum* [poz. 13] unikalne formy autogamii: ziarna pyłku kielkowały bezpośrednio z lokuli pręcika, omijając znamię lub spadając czy ześlizgując się na powierzchnię znamienia. Łagiewki pyłkowe były widoczne w kanale stylarnym. Taka forma autogamii może być metodą zapylania na Society Islands (a nawet w całej Polinezji Francuskiej), gdy brak owadów zapylających lub wysoko w górach, gdzie panują trudne warunki środowiskowe. U *E. aphyllum* [poz. 14] najważniejszym doniesieniem była obserwacja kielkujących ziaren pyłku zgrupowanych w tetrady po dwóch dniach od ręcznego zapylenia kwiatu. W trzecim i czwartym dniu wykazano masowy wzrost łagiewek pyłkowych wzdłuż stylarnego kanału i u wejścia do zalążni.

13. **Kowalkowska AK**, Margońska HB (2012) Notes on the self-pollination of *Dendrobium biflorum*. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 81(3): 223-228.
14. Krawczyk E, Rojek J, **Kowalkowska AK**, Kapusta M, Znaniecka J, Minasiewicz J (2016) Evidence for mixed sexual and asexual reproduction in the rare European mycoheterotrophic orchid *Epipogium aphyllum*, *Orchidaceae* (ghost orchid). Annals of Botany 118(1): 159-172.

C. Analiza cytologiczna i mikromorfologiczna w odniesieniu do badań taksonomicznych i/lub filogenetycznych u *Orchidaceae*

[Poz. 15] obejmuje rozdział w monografii, w którym zawarłam opis przygotowania preparatów do mikroskopii skaningowej. [Poz. 16] zawiera opis cech morfologicznych i/lub mikromorfologicznych warzki i gynostemium *Vargasiella wenezuelana* i *Warrea costaricensis* istotnych w badaniach taksonomicznych i filogenetycznych. [Poz. 17] obejmuje badania kariotypu *Paphiopedilum canhii* oraz badania makro- i mikromorfologiczne gynostemium, warzki i powierzchni liści u wybranych przedstawicieli podrodzajów i sekcji *Paphiopedilum* celem wykazania, że *P. canhii* tworzy niezależną linię filogenetyczną.

15. Kowalkowska AK (2013) Scanning Electron Microscopy (SEM), in: Taxonomic redefinition of subtribe *Malaxidinae* (*Orchidales*, *Malaxidae*). Margońska HB, Kowalkowska AK, Górniak M, Rutkowski P. Koeltz Publishing House, 691pp., rozdział w monografii.

16. Szlachetko DL, Górniak M, Kolanowska M, Mytnik-Ejsmont J, Kowalkowska AK, Koliński T (2014) Taxonomic position and phylogeny of the genus *Vargasiella* (*Orchidaceae*, *Vandoideae*) based on molecular and morphological evidence. PLoS ONE 9(6): e98472. DOI: 10.1371/journal.pone.0098472.

17. Górniak M, Szlachetko DL, Kowalkowska AK, Bohdanowicz J, Canh CX. (2014) Taxonomic placement of *Paphiopedilum canhii* (*Cypripedioideae*; *Orchidaceae*) based on cytological, molecular and micromorphological evidence. Molecular Phylogenetics and Evolution 70: 429-441.

5.3. Pozostałe przejawy aktywności naukowej

Wyniki moich badań prezentowałam na konferencjach krajowych i międzynarodowych w formie 8 referatów i 16 posterów. Uczestniczyłam łącznie w 12 projektach, na które uzyskano finansowanie ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego i Narodowego Centrum Nauki (3 projekty) oraz ze środków Uniwersytetu Gdańskiego (9 projektów). W 4 projektach pełniłam rolę kierownika, w tym w ramach 1 projektu NCN. W 4 projektach byłam wykonawcą, w tym 1 z MNiSW i 1 grant promotorski. W 4 projektach pełniłam rolę opiekuna merytorycznego (funkcja promotora pomocniczego w dwóch doktoratach). Dwukrotnie otrzymałam Zespołową Nagrodę I stopnia Rektora Uniwersytetu Gdańskiego za monografię i cykl publikacji naukowych. W latach 2005-2013 pięciokrotnie przebywałam na krótkoterminowych stażach naukowych w ośrodkach badawczych w Wielkiej Brytanii i Austrii.

Szczegółowy wykaz mojego dorobku naukowego, dydaktycznego i popularyzatorskiego znajduje się w Załączniku 3.

Agnieszka Kowalkowska